

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Schmid

Veränderungen der Leber nach chronischer Einwirkung von Fremdstoffen bei der weißen Maus

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

Henriette Thal

Zahnärztin aus Bad Sooden-Allendorf

Marburg 1966

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Schmid

Veränderungen der Leber nach chronischer Einwirkung von Fremdstoffen bei der weißen Maus

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

Henriette Thal

Zahnärztin aus Bad Sooden-Allendorf

Marburg 1966



Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am: 22. Februar 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan : Prof. Dr. med. O. Braun-Falco

Referent : Prof. Dr. med. W. Schmid

Correferent : Prof. Dr. med. et med. dent. H. Heuser

I n h a l t

I	<u>Einleitung</u>	1
II	<u>Methodik</u>	2
A	1.) Tiermaterial	2
	2.) Behandlung der Tiere	2
	3.) Messungen während des Versuchsverlaufes	6
	4.) Tötung der Tiere	7
B	Histologische Aufarbeitung	7
	1.) Fixierung	7
	2.) Einbettung	8
	3.) Färbung	9
C	Prinzip der Histometrie	10
	1.) Auszählung der Leber- und Bindegewebszellen im konstanten Gitterquadrat	10
	2.) Messungen mit dem Integrationstisch	10
D	Berechnungen und statistische Auswertung	11
	1.) Berechnungen aus den Meßergebnissen am Integrationstisch	11
	2.) Mittelwertbildung und Berechnung von Streubreite und Signifikanz	12
	3.) Berechnung der Regression	13
III	<u>Versuchsergebnisse</u>	
A	Ergebnisse bei unbehandelten Tieren	16
	1.) Körperwachstum	16
	2.) Leberwachstum	17
	3.) Wachstumsanalyse der Leber	21
B	Ergebnisse nach Behandlung mit <u>Phenobarbital</u>	25
	1.) Körperwachstum	25
	2.) Leberwachstum	25
	3.) Wachstumsanalyse der Leber	27

C	Ergebnisse nach Behandlung mit <u>Halothan</u> . . .	30
	1.) Körperwachstum	30
	2.) Leberwachstum	30
	3.) Wachstumsanalyse der Leber	32
D	Ergebnisse nach kombinierter Behandlung mit <u>Halothan</u> und <u>Phenobarbital</u>	34
	1.) Körperwachstum	35
	2.) Leberwachstum	35
	3.) Wachstumsanalyse der Leber	35
E	Ergebnisse nach Behandlung mit <u>Dimethyl- nitrosamin</u>	36
	1.) Körperwachstum	38
	2.) Leberwachstum	38
	3.) Wachstumsanalyse der Leber	38
F	Ergebnisse nach kombinierter Behandlung mit <u>Phenobarbital</u> und <u>Dimethylnitrosamin</u> . .	39
	1.) Körperwachstum	40
	2.) Leberwachstum	40
	3.) Wachstumsanalyse der Leber	40
G	Ergebnisse nach kombinierter Behandlung mit <u>Halothan</u> und <u>Dimethylnitrosamin</u>	41
	1.) Körperwachstum	42
	2.) Leberwachstum	42
	3.) Wachstumsanalyse der Leber	42
H	Histologische Befunde	43
IV	<u>Diskussion</u>	46
V	<u>Zusammenfassung</u>	49
VI	<u>Literatur</u>	52

I Einleitung

In einer Reihe von Untersuchungen der letzten Jahre haben vor allem Conney in USA und Remmer in Deutschland gezeigt, daß durch Applikation körperfremder Substanzen eine gewisse Fermentinduktion in der Leber erzeugt werden kann, wobei das Phenobarbital als stark induzierende Substanz hervortrat. Merker und Remmer stellten an der Rattenleber elektronenmikroskopisch eine Vermehrung der „smooth membranes“ des endoplasmatischen Retikulums fest. Außerdem berichteten Remmer u. a. über eine Vergrößerung der Leber nach längerer Anwendung einiger induzierender Substanzen.

Am hiesigen Institut hatte die chronische Einwirkung von Barbituraten und von Halothan (Kunz und Hoops, Siess) bei der Maus ebenfalls eine Lebervergrößerung bewirkt. In der Dissertation von Preis ergab die histometrische Analyse der Leber bei chronischer Fremdstoffeinwirkung während des Zeitraumes von 4 Wochen eine vorwiegend auf Zunahme des Leberzellvolumens beruhende Vergrößerung, und die Dissertation von Raeker wird darstellen, daß sie mit einer Vermehrung des Gesamtproteins und der Nukleinsäuren einhergeht.

Die vorliegende Arbeit sollte durch histometrische Analyse der Leber (nach der Methode von Siess und Stegmann und mit dem Integrationstisch nach Recker, Kraft und Stickel) klären, ob im Langzeitversuch bis zu einem halben Jahr unter chronischer Einwirkung von Phenobarbital, Halothan und dem Karzinogen Dimethylnitrosamin auftretende Veränderungen durch Hyperplasie, reine Zellhypertrophie oder gemischte Vorgänge entstehen und ob sich eventuell Zellentartung und Tumorbildung abgrenzen lassen.

II Methodik

A 1) Tiermaterial.

Für die Versuche wurden 120 männliche weiße Mäuse des Reinzuchtstammes Z II der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Tübingen herangezogen. Das gesamte Tiermaterial war in bestem Allgemeinzustand und frei von ansteckenden Krankheiten. Nicht versuchsbedingte Todesfälle traten während des ganzen Versuchszeitraums nicht auf. Die Tierhaltung erfolgte im Tageslichtstall bei 24-27° C Raumtemperatur in Glaskäfigen mit Sägespänen als Streu bei Trockenfutter der Fa. Latz und Wasser aus Saugflaschen ad libitum.

Die Versuche gliederten sich in 2 Abschnitte von 1/4 und 1/2 Jahr Dauer mit jeweils 6 verschiedenen Gruppen zu je 12 Tieren, so daß zu Beginn des Experiments jeder Gruppe 24 Tiere zugeordnet waren, von welchen nach Abschluß der 1/4jährigen Behandlungsperiode 12 Tiere getötet und untersucht wurden; 6 Tiere dienten der hier vorliegenden histologischen Aufarbeitung, während die übrigen 6 Tiere biochemischen Untersuchungen zugeführt wurden, die in einer gesonderten Arbeit abgehandelt sind (R a e k e r). Für die in gleicher Weise aufgeteilten Endbestimmungen nach 1/2 Jahr stand somit dieselbe Tierzahl zur Verfügung. Beiden Versuchsserien lief eine Kontrollgruppe von je 24 unbehandelten Mäusen parallel. Um genaue Vergleichsmöglichkeiten zu gewährleisten, wurden als Ausgangsmaterial in Alter (3-4 Wochen) und Körpergewicht (18-20 g) weitgehend einheitliche Tiere herangezogen.

2) Behandlung der Tiere.

Da für die relativ lange Versuchsdauer von 1/2 Jahr bei der Applikation der Testsubstanzen durch Injektion die Gefahr der chronischen Infektion gegeben war und dadurch

bedingte Störungen im Versuchsverlauf, sowie Änderungen oder Überlagerungen der Versuchsergebnisse die Durchführbarkeit eines Langzeitversuchs überhaupt bzw. seine exakte Auswertung in Frage stellten, wurde neben der Inhalationsbehandlung die perorale Applikationsform gewählt.

a) Trinkversuche.

Als einfachste Form der peroralen Verabreichung erwies sich das Angebot der Substanzen im Trinkwasser, wobei die Konzentration der Lösungen so berechnet war, daß die Tagestrinkmenge von 5 ml pro Tier - durch tägliches Zurückmessen des Saugflascheninhalts ermittelt - die in Frage kommende Tagesdosis pro kg Körpergewicht enthielt. Ein 25 g schweres Tier, für das pro die 100 mg pro kg vorgesehen waren, erhielt demzufolge eine 0,05%ige Lösung entsprechend 2,5 mg Substanz in 5 ml Wasser.

Für den besonderen Fall der gleichzeitigen Anwendung von 2 verschiedenen Stoffen wurde die vorgeschriebene Dosis jeweils in der halben Wassermenge gelöst, so daß in der zu gleichen Teilen hergestellten Mischung die gewünschte Konzentration der Substanzen vorlag.

Beispiel: 100 ml Trinkwasser sollten 0,05% Substanz I und 0,01% Substanz II enthalten. Das bedeutete 50 mg Substanz I in 50 ml Wasser gleich 0,1% und 10 mg Substanz II in 50 ml Wasser gleich 0,02% (s.o.).

Alle Lösungen wurden aus höher konzentrierten Stammlösungen täglich frisch angesetzt.

Bei dieser Behandlungsweise standen die Tiere - in Abhängigkeit von ihren Trinkgewohnheiten - unter einer Dauerwirkung des Fremdstoffes.

Behandlung mit Phenobarbital.

Eine Tiergruppe erhielt 50 mg/kg Phenobarbital peroral. Nachdem die Untersuchung am 1. Quartalsende keine nennenswerte Lebervergrößerung ergeben hatte, erschien

eine Dosiserhöhung auf 150 - 200 mg/kg Phenobarbital für den zweiten Behandlungsabschnitt angezeigt. Sowohl unter der kleinen als auch unter der höheren Dosis konnte in keinem Fall eine narkotische Wirkung beobachtet werden. Der normale Schlaf-Bewegungs-Rhythmus war nicht gestört. Die Möglichkeit einer leicht vermehrten Schlaftiefe während der nach der Freßzeit üblichen Ruhepause ließ sich nicht ausschließen. Die Tiere waren aber jederzeit und sofort weckbar ohne Unterschied zu den Kontrollen, so daß wohl eine relativ gleichmäßige, mit Sicherheit aber unerschwellige Phenobarbitalwirkung bestand.

Behandlung mit Dimethylnitrosamin.

Eine weitere Versuchsgruppe bekam während der ersten Behandlungsperiode 1 mg/kg Dimethylnitrosamin. Auch hier war nur eine geringfügige Wirkung an der Leber zu verzeichnen und die Dosis mußte im 2. Quartal auf 4 mg pro kg erhöht werden.

In der Verhaltensweise der Tiere waren keine Besonderheiten zu bemerken.

Kombinierte Behandlung mit Phenobarbital und Dimethylnitrosamin.

50 mg/kg Phenobarbital und 1 mg/kg Dimethylnitrosamin war für die Dauer des 1. Vierteljahres die Dosierung dieser Tiergruppe. Wiederum traten nur unwesentliche Veränderungen auf, so daß in der zweiten Versuchshälfte eine Dosissteigerung auf 150 - 200 mg/kg Phenobarbital und 4 mg/kg Dimethylnitrosamin erforderlich war. Die Verhaltensweise auch dieser Tiere blieb unauffällig.

b) Inhalationsversuche mit Halothan.

Versuchsanordnung:

Für die Inhalationsbehandlung stand ein geeichter Verdampfer („Vapor“ der Firma Dräger, Lübeck)* zur Ver-

* Für die freundliche Überlassung des Verdampfers sei der Firma Dräger, Lübeck, Dank gesagt.

fügung, bei dem eine genaue Einstellung der mit der Temperatur im Verdampfungsgefäß (24 - 26°C) koordinierten Narkosegaskonzentration möglich war. Die Tiere kamen zur Behandlung in 4 mit Silikon abgedichtete Exsikkatoren von 2,75 l Fassungsvermögen, die im konstant 25°C warmen Wasserbad standen. Dem Verdampfer wurde zur Aufnahme des Narkotikums Sauerstoff mit einem Flow von 1,5 l zugeführt; von hier gelangte das Gasgemisch über einen 2 m langen ebenfalls im warmen Wasserbad befindlichen Schlauch zu den Exsikkatoren. Aus dem seitlichen Exsikkatorstutzen leitete ein 2 m langer Faltenschlauch von 2,5 cm Durchmesser das durchströmende Gas ins Freie.

Inhalationsbehandlung mit Halothan.

Alle Tiere dieser Versuchsserie inhalierten 1/4 bzw. 1/2 Jahr lang täglich (die Sonntage ausgenommen) eine Stunde lang 0,5% Halothan in oben beschriebener Weise. Hierzu wurden jeweils 4 - 6 Tiere auf ein Drahtnetz im Exsikkator gesetzt.

0,5% Halothan entsprachen einer nicht narkotischen Konzentration. Die 50%ige Seitenlagenkonzentration liegt für die Maus bei 0,7%, die 100%ige Seitenlagenkonzentration bei 1% Halothan.

Während der täglichen Behandlung gerieten die Tiere im Verlauf der ersten 2 - 3 Monate in ein Exzitationsstadium mäßigen Grades, das nach Zurücksetzen in die Käfige noch ca. 5 - 10 Minuten anhielt. Mit zunehmender Versuchsdauer war eine sich steigende narkotische Wirkung zu beobachten. Die Tiere wurden späterhin nach 15 - 20 Minuten dauernder Exzitation schläfrig und bewegten sich im Exsikkator nur wenig, waren aber nach Absetzen des Gases sofort wieder mobil. Zurückgesetzt in die Käfige erschienen Freß- und Sauglust sowie Mobilität für kurze Zeit gesteigert. Anschließend bestand eine Apathie, die in einen ca. 1stündigen Nachschlaf

übergang, ohne daß jedoch die üblichen, durch Berührung auslösbaren Schreckreaktionen verzögert aufgetreten wären oder sich Störungen im Sinne einer Gleichgewichtsbeeinträchtigung erkennen ließen.

Kombinationsbehandlung mit Halothan und Phenobarbital.

Als Basis diente hier die oben beschriebene Dauerbehandlung mit Phenobarbital (Dosierung und Dosiserhöhung wie bei reiner Phenobarbitalbehandlung). Zusätzlich inhalierten die Tiere täglich 1 Stunde lang (außer sonntags) 0,5% Halothan.

Der Effekt war ähnlich wie bei der reinen Halothanbehandlung, die mit der Versuchsdauer zunehmende narkotische Wirkung war jedoch intensiver. Vor allem in der zweiten Behandlungsperiode mit erhöhter Phenobarbitaldosierung schliefen die Tiere während der Inhalation, waren vereinzelt sogar tief narkotisiert und nach Herausnahme aus dem Exsikkator nicht weckbar. Die oberflächlich schlafende Mehrzahl der Tiere exzitierter ca. 15 Minuten und verfiel dann in einen 1-2stündigen Nachschlaf. Die in tiefer Narkose befindlichen Einzeltiere erwachten oft erst nach 10-20 Minuten und anschließend folgten dann ebenfalls Exzitation und Nachschlaf.

Kombinationsbehandlung mit Halothan und Dimethylnitrosamin.

Ein zweiter Kombinationsversuch prüfte die Tiere nach Dauerbehandlung mit Dimethylnitrosamin (Dosierung wie oben beschrieben) und zusätzlicher Halothaninhalation (0,5% täglich 1 Stunde außer sonntags).

Exzitation und Schlafwirkung äußerten sich wie bei reiner Halothanapplikation. (Die Auswertung beschränkte sich bei dieser Gruppe auf die Endbestimmungen nach einem Halbjahr.)

3) Messungen.

Während der ganzen Versuchsdauer erfolgte fortlaufende Gewichtskontrolle der Tiere auf einer Mettler-Tierwaage Modell K 4 (0,1 g genau ablesbar) wöchentlich einmal

vormittags zwischen 8 und 10 Uhr, so daß das Wachstum in einer Kurve verfolgt werden konnte. In Abb. 1 sind die Ergebnisse des Gesamtkollektivs von 48 Kontrolltieren enthalten. Für die zur histometrischen Untersuchung herangezogene zufällige Auswahl von nur 20 Tieren (Tab. 1) ergaben sich daher leicht differierende Werte.

4) Tötung der Tiere.

Bei Versuchsende wurden die Tiere nach Bestimmung des Körpergewichts 1 Stunde nach der letzten Inhalationsbehandlung durchweg zwischen 11 und 13 Uhr und zur Sicherung gleichmäßigen Ausblutens durch Dekapitation mit Scherenschlag getötet. (Andere Tötungsarten, Narkose oder Abdrücken des Genicks, führen erfahrungsgemäß zu unter Umständen starker und ungleichmäßiger Gewichtsvermehrung der Leber infolge Blutstauung.) Sofort nach der Tötung wurden die Tiere aufgespannt und Thorax und Abdomen durch Medianschnitt eröffnet. Hierauf erfolgte nach Entfernung des Magen-Darm-Traktes, des Zwerchfells und der großen Gefäße Auslösung der Leber und Ermittlung ihres Gewichts auf einer Sartorius-Feinwaage bis auf 1 mg genau. Der große rechte Leberlappen fand einheitlich zur Histometrie und histochemischen Glykogendarstellung Verwendung, die kleinen linken Leberlappen dienten der Untersuchung des Fettgehalts der Leber.

Bei einzelnen Serien wurden unter Abpräparieren des umgebenden Bindegewebes auch eine Niere und die Milz entnommen.

B Histologische Aufarbeitung.

1) Fixierung.

Der große rechte Leberlappen, Niere und Milz kamen sofort nach der Entnahme in eisgekühlten Alkohol p. a., die linken Leberlappen in 40%iges Formalin.

2) Einbettung.

a) Paraffineinbettung.

Ein kleiner Teil der alkoholfixierten Kontrollpräparate wurde nach genauem Zeitplan über Methylbenzoat-Benzol in Paraffin eingebettet.

Einbettungszeitplan Methylbenzoat-Benzol.

24 Std. Alkohol 100%	I
24 Std. Alkohol 100%	II
24 Std. Alkohol 100%	III
12 Std. Methylbenzoat	I
12 Std. Methylbenzoat	II
12 Std. Methylbenzoat	III
1/2 Std. Benzol	I
1/2 Std. Benzol	II
1/2 Std. Benzol-Paraffin	aa
12 Std. Paraffin im Vakuumexsikkator.	Anschließend Ausgießen und Fertigstellung der Paraffin- blöcke.

Mit einem Feinmikrotom der Firma Leitz, Wetzlar, wurden $7,5\mu$ dicke Bänderschnitte hergestellt, auf Wasser bei 40°C gestreckt, auf Objektträger aufgezogen und hernach im Paraffinschrank getrocknet.

Alle übrigen Präparate der Kürze des Verfahrens und der besseren Schneidbarkeit wegen nach Zeitplan über Chloroform zur Einbettung.

Einbettungszeitplan Chloroform.

24 Std. Alkohol 100%	I
24 Std. Alkohol 100%	II
24 Std. Alkohol 100%	III
2 Std. Chloroform	I
2 Std. Chloroform	II
1 Std. Chloroform-Paraffin	aa
12 Std. Paraffin im Vakuumexsikkator.	Ausgießen

und Fertigstellung der Paraffinblöcke.
Schneidetechnik wie oben.

b) Gelatineeinbettung.

Die formalinfixierten Präparate hatten 12-16 Stunden zu wässern, ehe sie zur Gelatineeinbettung bereit waren.

Einbettungszeitplan Gelatine.

24 Std. 12,5%ige („dünne“) Gelatine
24 Std. 25%ige („dicke“) Gelatine
Ausgießen und Fertigstellung der Gelatine-
blöcke. Härtung der Gelatineblöcke in
4%igem Formalin.

Mit einem Gefriermikrotom der Firma Leitz, Wetzlar, Herstellung von 7,5 μ dicken Gefrierschnitten, Auffangen der Schnitte in Aqua dest., Aufziehen auf mit Eiweißglyzerin-Film versehene Objektträger. Lufttrocknung.

3) Färbung.

Paraffinschnitte:

Nach Entparaffinierung in Xylol

- a) Haemalaun - Eosin für histometrische Untersuchungen.
- b) PAS - Reaktion (periodic - acid - Schiff - reaction) nach Mc. Manus zur histochemischen Glykogendarstellung.

Eindecken der Präparate in Rhenohistol.

Gefrierschnitte:

- c) Fettfärbung nach der Methode von Michaelis und Herxheimer mit Scharlachrot.

Eindecken der Präparate mit Glyzeringelatine.

C Prinzip der Histometrie.

1) Auszählung der Leber- und Bindegewebszellen im konstanten Gitterquadrat.

Für die Untersuchung stand dasselbe Mikroskop mit demselben Gitterquadrat (Zeiss - Okular Nr. 6 bei Objektiv 42 (Ap. 0,85) mit Flächenvergrößerung 1:900) zur Verfügung, das schon bei früheren Untersuchungen (/14) benutzt wurde. Bei der genannten Vergrößerung hat das Gitterquadrat die Fläche $a^2 = 71820 \mu^2$. Die Präparate waren unter dem Mikroskop so eingestellt, daß größere Gefäße nicht in den Bereich des Gitterquadrats gelangten, so daß immer ein optisch-homogenes Gewebsbild zur Verfügung stand. Randbezirke wurden wegen ihrer stärkeren Schrumpfung vernachlässigt. Die Ermittlung der mit Kern geschnittenen Leberzellzahl x in a^2 geschah in gleicher Weise wie früher:

- 1) Auszählung aller feststellbaren Leberzellkerne (L) unter Mitberücksichtigung der vom linken und oberen Rand geschnittenen Kerne.
- 2) Zählung der doppelkernigen Zellen (D).
- 3) Durch Errechnung der Differenz von L und D Feststellung der mit Kern geschnittenen Leberzellen.
- 4) Zählung der angeschnittenen Bindegewebskerne (B) zur Beurteilung eventueller Proliferationsvorgänge des RES.

In jedem Präparat wurden 6 verschiedene Felder durchgemustert. Die ohne Kern geschnittenen Leber- und Bindegewebszellen blieben der Zählung unzugänglich.

2) Messungen mit dem Integrationstisch.

Mittels über einen Nonius auf 0,01 mm genau ablesbarer Meßspindeln bewegte sich das Präparat bei starker Vergrößerung (Ölimmersion) unter einem Fadenkreuz des Okulars als Bezugspunkt auf einer geraden Linie fort. Die voneinander unabhängig arbeitenden Spindeln registrierten

die Länge des fortbewegten Objekts, wobei die einzelnen Gewebsbestandteile (Kern, Zytoplasma, Kapillar-Bindegewebsraum) jeweils gesonderten Spindeln zugeordnet waren, die wechselweise bedient wurden. Gewebslücken artifizieller Art, größere Gefäße und dergleichen sammelte eine Leerspindel; sie entfielen bei der Berechnung. Nach Erreichen des Präparatenrandes in Längsrichtung und Lösung aller Fixationsschrauben der Meßspindeln ohne Verstellung der Skalen wurde das Präparat in Anfangsstellung zurückgebracht, um 0,1 mm seitlich verschoben und die Messung fortgesetzt, bis nach mehrmaliger Wiederholung dieses Vorgangs (je nach Größe des Präparates 5-8mal) die Zytoplasmaspindel bei 25 mm angelangt war. Die einzelnen Längen der Gewebsbestandteile konnten nun an den Spindeln abgelesen und notiert werden.

Bei der vorliegenden Untersuchung registrierte Spindel I die Kernfläche, Spindel II das Zytoplasma, Spindel III das Bindegewebe und Spindel IV diente als Leerspindel.

D Berechnungen und statistische Auswertungen.

1) Berechnungen aus den Meßergebnissen am Integrations- tisch.

Nach dem Prinzip des Integrationstisches verhalten sich die ermittelten Längenanteile der einzelnen Elemente wie die entsprechenden Flächenanteile und wie die Volumenanteile zueinander (12, 14).

Am Beispiel einer Messung soll die Berechnung der Einzelfläche von Kern (k), Zytoplasma (c) und Bindegewebe (b) erläutert werden.

Ein Normalpräparat hatte folgende Längen ergeben:

$$k = 4,89 \text{ mm}$$

$$c = 25,00 \text{ mm}$$

$$b = 5,80 \text{ mm}$$

$$\text{Gesamtlänge} \quad k + c + b = 35,69 \text{ mm}$$

Daraus resultiert als prozentualer Anteil der Einzel-
flächen

$$K = \frac{k \cdot 100}{k + c + b} = \frac{4,89 \cdot 100}{35,69} = 13,6 \%$$

$$C = \frac{c \cdot 100}{k + c + b} = \frac{25 \cdot 100}{35,69} = 70,0 \%$$

$$B = \frac{b \cdot 100}{k + c + b} = \frac{5,80 \cdot 100}{35,69} = 16,2 \%$$

Da sich die Flächenanteile wie die Volumenanteile untereinander verhalten, läßt sich die Plasma-Kern-Relation auch volumenmäßig direkt aus dem Längenverhältnis der gemessenen Plasma- und Kernanteile oder aus dem prozentualen Verhältnis der beiden zueinander errechnen. Für das angeführte Beispiel gilt demnach:

$$\frac{P}{K} = \frac{25,00}{4,89} = \frac{70,0}{13,6} = 5,1$$

2) Mittelwertbestimmung und Berechnung von Streubreite und Signifikanz.

Der Mittelwert eines Kollektivs errechnete sich wie folgt:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

$\bar{x}$ = Mittelwert

x_i = Einzelwert

Σ = Summe

n = Anzahl der Einzelwerte

Dann war die Streuung des Kollektivs

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{x} - x_i)^2}{n - 1}}$$

und die Streuung des Mittelwertes

$$s_m = \frac{s}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{\sum (\bar{x} - x_i)^2}{(n-1) n}}$$

Die Prüfung der Signifikanz der Differenz vergleichbarer Mittelwerte ergab sich nach der t - Verteilung von Student:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{s_{m_1}^2 + s_{m_2}^2}}$$

Die Wahrscheinlichkeit p wurde nach den jeweiligen Freiheitsgraden ($n_1 + n_2 - 2$) aus den Geigy-Tabellen abgelesen. Ein $p < 0,02$ (98% Wahrscheinlichkeit) galt als statistisch gesichert.

3) Berechnung der Regressionsgeraden.

Die Regressionsgerade als Ausdruck der Beziehung zwischen einer unabhängigen variablen Größe und der von dieser Größe abhängigen Variablen eines Koordinatensystems ergab sich nach Ther aus

$$y = bx + a$$

Die Berechnung erfolgt durch Zwischenschaltung verschiedener Hilfsgrößen.

Mathematische Abkürzungen:

- $\bar{x}$ = Mittelwert des Kollektivs der unabhängigen Größe
- x_1 = Einzelwert
- $\bar{y}$ = Mittelwert der Variablen
- n = Anzahl der Einzelwerte x_i und y_i
- Σx = Summe der Einzelwerte x_i

- T_y = Summe der Einzelwerte y_i
 S_{xx} = Summe der Quadrate der Einzelwerte x_i
 S_{xy} = Summe der Produkte aus den Einzelwerten x_i und y_i
 a = Ordinatenwert, in dem die Regressionsgerade die y - Achse schneidet
 b = Regressionskoeffizient

Der Regressionskoeffizient b resultiert aus den Hilfsgrößen S_{xx} und S_{xy}

$$b = S_{xy} : S_{xx}$$

$$S_{xx} = \frac{S(x_i)^2 \cdot n - T_x^2}{n}$$

$$S_{xy} = \frac{S(x_i \cdot y_i) \cdot n - T_x \cdot T_y}{n}$$

$$b = \frac{S(x_i \cdot y_i) \cdot n - T_x \cdot T_y}{S(x_i)^2 \cdot n - T_x^2}$$

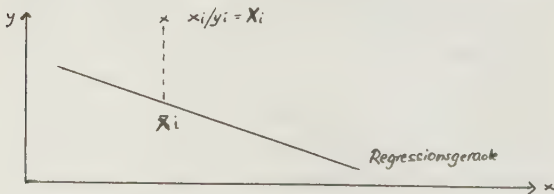
Nun ist b bekannt und der Ordinatenwert a ergibt sich aus

$$y = bx + a$$

$$a = y - bx$$

Die Streuung der Regressionsgeraden wurde durch Berechnung von δ_e bestimmt. Hierfür war aus der graphischen Darstellung (Abb. 3) zwischen den Einzelwerten

$x_i/y_i = \bar{X}_i$ und ihrer auf der Regressionsgeraden korrespondierenden Punkte $\bar{X}_i$ die Differenz $\bar{X}_i - x_i$ abzulesen und δ_e nach der Formel $\delta_e = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{X}_i)^2}{n-1}}$ zu bestimmen (s. Abb. unten)



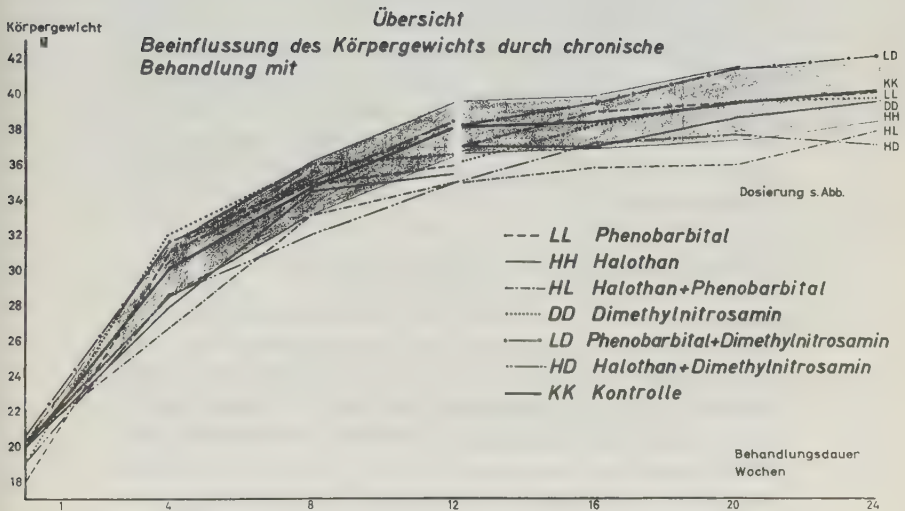


Abb. 1: Verlauf des Körpergewichts bei chronischer Einwirkung von Fremdstoffen.

III Versuchsergebnisse

Die Beurteilung des Allgemeinzustandes der Tiere vom äußeren Aspekt her war sehr schwierig, da es sehr bald zu Streitigkeiten mit Kämpfen kam. Bei Kontroll- wie bei Versuchstieren stellten bis 5-markstückgroße, meist oberflächliche Bißwunden am Rücken und teilamputierte Schwänze keine Seltenheit dar. Infektionen traten jedoch nie auf; alle Wunden verschorften ohne Komplikationen und heilten ab. Da eine veränderte Verhaltensweise durch mehr oder weniger starke narkotische Wirkung bedingt war, die bei einzelnen Gruppen (Halothan) nur temporär auftrat, blieben als einzige Vergleichskriterien während des Versuchsverlaufs der Zustand des Fells und das Körpergewicht.

A Ergebnisse bei unbehandelten Tieren.

Die Tiere befanden sich nach halbjähriger Beobachtung in gutem Allgemeinzustand. Das Fell war jedoch während der letzten 2-3 Monate nicht mehr so glatt, wie es bei Tieren, die vergleichshalber separat in Einzelkäfigen gehalten wurden und keine Bißspuren aufwiesen, zu beobachten war.

Die Sektion erbrachte einen normalen Organbefund. Die Leber war glatt und von dunkelroter Farbe.

1) Körperwachstum.

Aus der Körpergewichtskurve (Abb. 1) ist zu sehen, daß das Wachstum einem kontinuierlichen Anstieg folgt. Die jungen Tiere, zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns 3 bis 4 Wochen alt und 20 g schwer, vermehren ihr Körpergewicht innerhalb der ersten 4 Wochen um 50%. Nach weiteren 4 Wochen beträgt der Zuwachs nur noch 15% und bis Ende des 1. Quartals noch 10%. Nach diesem Zeitraum

ist das Längen- bzw. Skelettwachstum mit 90% Gesamtzuwachs abgeschlossen. Nach persönlichen Mitteilungen von Haakh (/4) beruht der Gewichtszuwachs ab 35-36 g mit zunehmendem Alter lediglich auf Fettansatz. Die Höhe dieses „Endgewichts“ variiert mit der Zusammensetzung des Futters, so daß im vorliegenden Fall bei dem relativ fettreichen Latzfutter das mittlere Gewicht von 38 g durchaus als adäquat angesehen werden kann. Der Zuwachs von 10% im zweiten Quartal dürfte demnach nur noch durch Mast bedingt sein. Das Körpergewicht hat seinen Anfangswert nach dieser Zeit mit 40 g verdoppelt. (Tab. 1 und 5; Abb. 1)

2) Leberwachstum.

Das absolute Lebergewicht nimmt proportional und isometrisch mit dem Körpergewicht zu, das heißt das relative Lebergewicht (mg/g) bleibt im Laufe des Wachstums, unabhängig vom Alter, weitgehend konstant und liegt nach unseren Beobachtungen zwischen 48 und 50 mg/g. Davon ist die obere Grenze jungen Tieren (um 20 g Körpergewicht), der untere Bereich schwereren Gewichtsklassen zuzuordnen. Im letzteren Fall ist die Verschiebung der Relation nach unten durch das erhöhte Körpergewicht der Fettmast bedingt. Die Viertel- und Halbjahresgewichte liegen bei 48,4 mg/g und 49,3 mg/g (Tab. 1 ; Abb. 2).

Mit den absoluten Zahlen ausgedrückt, ergibt sich ein Vierteljahreszuwachs von 1000 mg auf 1820 mg = 82% und bei Versuchsende hat sich auch das Lebergewicht von 1000 auf 2081 mg analog dem Körpergewicht verdoppelt. (Die Leber einer 20 g schweren Maus wiegt im Mittel 1000 mg.)

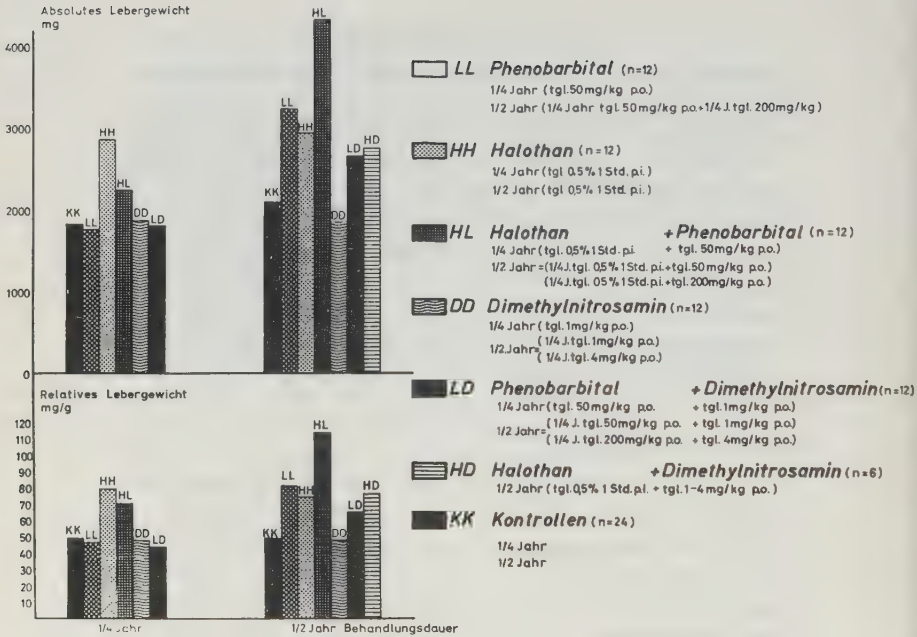


Abb. 2: Beeinflussung des absoluten und relativen Lebergewichts durch chronische Behandlung mit Phenobarbital, Halothan und Dimethylnitrosamin und ihren Kombinationen.

Leberzellzahl $\bar{x}$
in a^2

Kontrollen

o sog. kritisches Lebergewicht

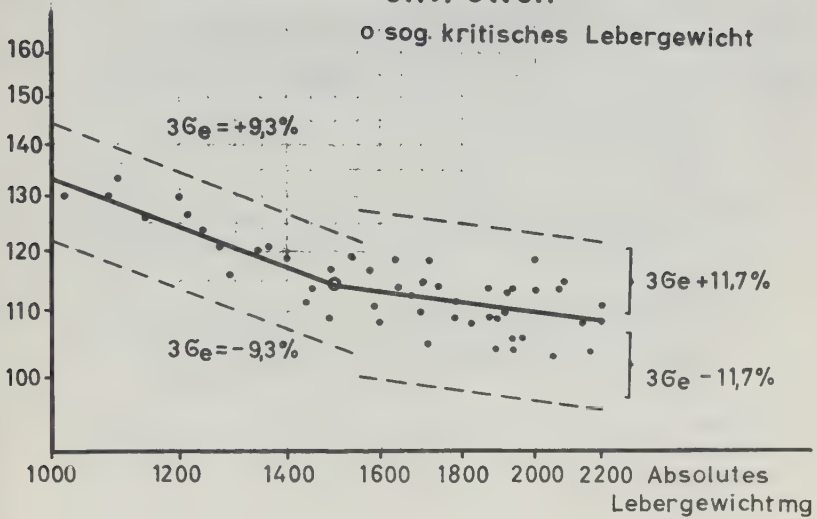
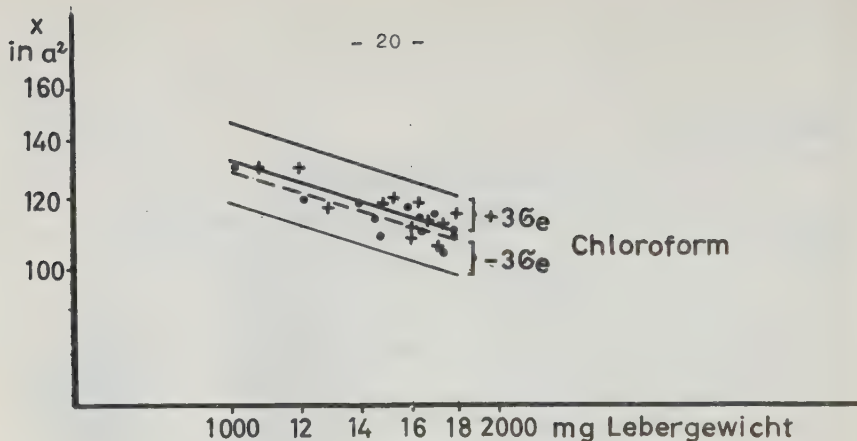


Abb. 3: Veränderung der Leberzellzahl $\bar{x}$ in a^2 bei wachsenden Lebern (1000-2200 mg) unbehandelter Tiere.



Unterschied zwischen + — Chloroform- und Methylbenzoateinbettung • — .

Abb. 4: Regressionsgeraden bei Chloroform- und Methylbenzoateinbettung. Differenz der Regressionsgeraden beträgt 2,2%.

Abb.

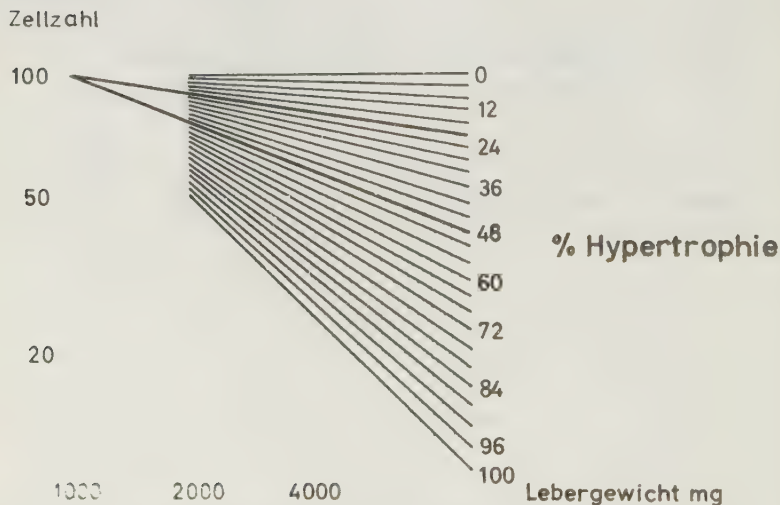


Abb. 5: Winkelskala (Verlauf von x in a^2 bei zunehmendem Lebergewicht) zur Bestimmung des Grades der Hypertrophie.

3) Wachstumsanalyse der Leber.

a) Leberzellzahl X in a^2 .

Die Zellzahl X im konstanten Gitterquadrat ($a^2 = 71820 \cdot 7,5 \mu^2$) als relatives Maß für die Gesamtzellzahl der Leber und das mittlere Zellvolumen ergibt im Gewichtsbereich zwischen 1000 mg und 2200 mg die in Abb. 3* im logarithmierten Achsensystem dargestellte Anordnung. Daraus geht hervor, daß X in a^2 mit zunehmendem Lebergewicht abnimmt, das heißt die Leber wächst nicht allein durch Zellvermehrung, sondern gleichzeitig durch Vergrößerung ihres Einzelzellvolumens. Außerdem ist bis etwa zum Abschluß des Körperwachstums bei 37 bis 38 g Körpergewicht mit durchschnittlich 1700 mg Lebergewicht ein steilerer Abfall von X in a^2 zu verzeichnen, als während des späteren Mastzuwachses mit bis 2200 mg schweren Lebern. Die zur Demonstration des Wachstumstrends der Leber berechneten Regressionsgeraden wurden daher für die Gewichtsklassen 1000-1600 mg und 1600-2200 mg gesondert bearbeitet.

Die Zellzahlverminderung in a^2 ist mit dem Neigungswinkel der zugehörigen Regressionsgeraden ein Gradmesser für die Volumenvergrößerung der Einzelzelle, wobei im unteren Gewichtsbereich mit der Spanne von 600 mg der steilere Winkel von -20° eine stärkere Zellzahlabnahme von $133 - 112 = 21$ Zellen gegenüber einem flachen Winkel von -8° , gleicher Spanne und nur

*) Hierzu wurden auch die aus über Methylbenzoat eingebetteten Präparaten gewonnenen Daten herangezogen, da die Zellzahlen nach den beiden Verfahren nur einen Unterschied von 2,2% zu Gunsten der Chloroformeinbettung ausmachen und die Werte von Methylbenzoat noch in den einfachen Streubereich des Chloroforms fallen (Abb. 4 ; Tab. 4).

113 - 108 = 5 Zellen in den höheren Klassen deutlich wiedergibt (Abb. 3 ; Tab. 2 und 3).

Von der Überlegung ausgehend, daß sich X in a^2 bei reiner, das heißt 100%iger Hypertrophie mit steigendem Lebergewicht um 50% vermindert und daher auf einer Geraden mit dem Neigungswinkel -45° liegt, läßt sich für die in Abb. 3 dargestellten Werte ein gradueller Unterschied für die Hypertrophie in den beiden Gewichtsbereichen ableiten. Von einer auf doppelt logarithmiertes Papier aufgetragenen Winkelskala (Abb. 5) ist der prozentuale Wert der Hypertrophie abzulesen und ergibt für die kleinen Lebern (Winkel -20°) 48%, für die großen (Winkel -8°) nur 20% (Tab. 8). Demnach müßte die Gesamtzellzahl um 52% und 80% zunehmen. Beiden Folgerungen haftet jedoch der Fehler an, daß die Zählung im Gitterquadrat mit der Höhe $7,5 \mu$ nicht die wahre Zellzahl in a^2 wiedergibt, da der durchschnittliche Zelldurchmesser höher als $7,5 \mu$ liegt, so daß die gefundene Zellzahl um den Fehler zu hoch ist. Grundsätzlich besagt jedoch die Methode, daß bei einem Winkel kleiner als $-22,5^\circ$ (50% Hypertrophie - 50% Zellvermehrung) die Zellvermehrung im Vordergrund steht, während zwischen $-22,5^\circ$ und -45° die Volumenzunahme der Einzelzelle überwiegt.

Die beiden Regressionsgeraden der Wachstumskurve in Abb. 3 treffen sich bei 1500 mg. Dies ist der Gewichtsbereich, der schon von Linzbach* als sogenanntes kritisches Gewicht postuliert wurde, und besagt, daß sich das Wachstum der Leber jenseits dieser Schwelle neben der Volumenvergrößerung der Einzelzelle durch gesteigerte Zellvermehrung vollzieht.

In früheren Untersuchungen von Siess und Stegmann (/14) hatte sich mit steigendem Lebergewicht (300-1600 mg)

X in a^2 nach der Formel $X = \frac{K}{\sqrt[3]{G^2}}$ vermindert,

* zitiert nach (/14)

was einem Leberwachstum ausschließlich durch Volumen-zunahme der Einzelzelle entsprach. Bei dem hier vorliegenden Untersuchungsmaterial nach 1/4 und 1/2 Jahr Beobachtungs- bzw. Versuchsdauer bewegen sich die Lebergewichte ausnahmslos oberhalb des „kritischen Gewichts“ (Tab. 1 und 9-15), so daß die Berechnung und Darstellung nach der Formel von Siess und Stegmann in der bei Preis (/8) angewandten Form (Gewichtsklassen 900 bis 1500 mg) nicht herangezogen werden konnte, da die Voraussetzung der Gesamtzellzahlkonstanz fehlt.

Es ist nun zu prüfen, wie weit die Versuchswerte gegenüber der Wachstumskurve der Abb. 3 und den zeitlich übereinstimmenden Vergleichsergebnissen der Kontrollen nach 1/4 und 1/2 Jahr Beobachtung vom Scheitel $-22,5^\circ$ nach unten oder oben zur Hypertrophie oder Hyperplasie hin abweichen.

b) Plasma-Kern-Relation.

Tab. 3 weist innerhalb der einzelnen Gewichtsklassen keine systematische Änderung der Plasma-Kern-Bindege-webs-Anteile auf, so daß der jeweilige Mittelwert für das Gesamtmaterial repräsentativ ist, wie schon in den Arbeiten von Siess und Stegmann und auch von Preis fest-zustellen war.

Flächen- und volumenmäßig betragen die einzelnen Gewebs-anteile

Plasma	69,7%	($\delta_m = \pm 1,04$)
Kern	13,4%	($\delta_m = \pm 0,66$)
Kapillar- + Extrazellular- + Bindegewebsraum	16,7%	($\delta_m = \pm 0,48$)

Für die Plasma-Kern-Relation ergibt sich daraus

$$5,2\% \quad (\delta_m = \pm 0,34)$$

(s. Tab. 3 und Abb. 8)

Der Anteil der doppelkernigen Zellen an der Gesamtzell-zahl in a^2 beträgt 17%.

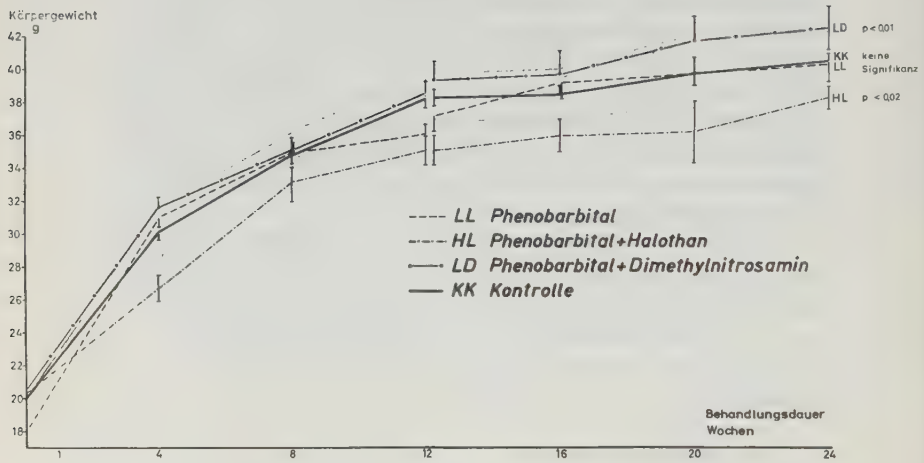


Abb. 6: Beeinflussung des Körpergewichts durch chronische Behandlung mit Phenobarbital und der Kombination mit Halothan und Dimethylnitrosamin.

B Ergebnisse nach Behandlung mit Phenobarbital.

Die Fellbeschaffenheit der Tiere unterschied sich nicht von der der Kontrollen.

Bei der Sektion fand sich eine glatte, dunkelrotfarbene Leber. Die übrigen Organe zeigten makroskopisch keinen von der Norm abweichenden Befund.

1) Körpergewicht.

Der Körpergewichtsanstieg verläuft kontinuierlich. Die erste Vierwochenrate beträgt 72% (50%)*, die zweite bringt 13% (15%) hinzu und die dritte nur mehr 3% (10%), das sind für das erste Vierteljahr insgesamt 100% (90%) Vermehrung, und nach einem halben Jahr haben die Tiere mit einer Steigerungsquote von 10% (6%) im zweiten Quartal ihr Anfangsgewicht um 124% (100%) vergrößert (Tab. 5). Der stärkere Initialanstieg beruht auf der physiologischen Wachstumsbeschleunigung junger Tiere und ist hier die Folge des um 2 g leichteren Ausgangsgewichts. Bei 20 g Anfangsgewicht würden sich Viertel- und Halbjahresquoten von 86% (90%) und 103% (101%) ergeben. Insgesamt liegt die Phenobarbitalkurve im Streuungsbereich der Kontrollen (Abb. 6). Das signifikant kleinere Vierteljahresgewicht ist die Folge der verstärkten Gewichtsabnahme einzelner Tiere. (Nach dem vierteljährigen Versuchsabschnitt wurden die jeweils leichtesten Tiere getötet; daraus resultierte für den Beginn der neuen Versuchsperiode ein Gewichtssprung nach oben im Sinne einer positiven Auslese.)

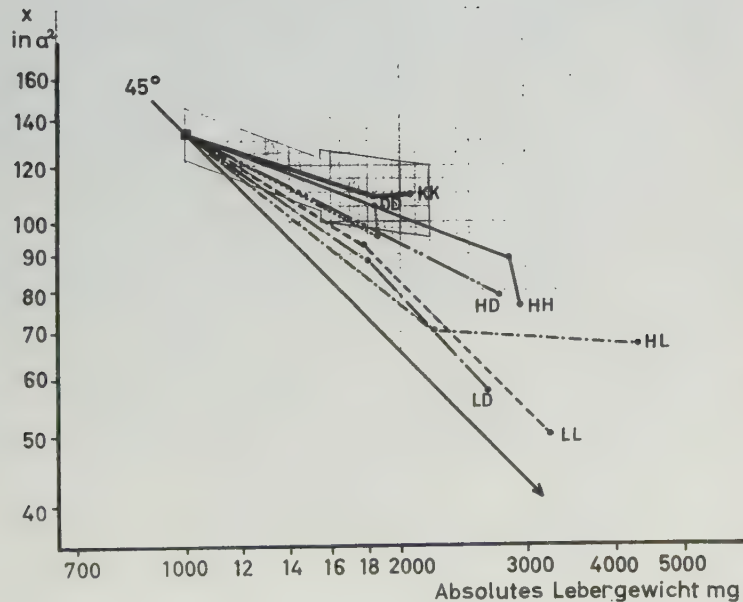
2) Lebergewicht.

Das zum Körpergewicht proportionale Leberwachstum der

* Die in Klammern gesetzten Prozentzahlen beziehen sich auf die Kontrollwerte.

Abb. 7:

Veränderungen der Leberzellzahl X in a^2 nach 1/4- und 1/2jähriger Behandlung mit



PHENOBARBITAL (n=12)

LL - - - - -

1/4 Jahr (tgl. 50 mg/kg p.o.)

1/2 Jahr (1/4 Jahr tgl. 50 mg/kg p.o. + 1/4 Jahr tgl. 200 mg/kg)

HALOTHAN (n=12)

HH _____

1/4 Jahr (tgl. 0,5% 1 Std. p.i.)

1/2 Jahr (tgl. 0,5% 1 Std. p.i.)

HALOTHAN

+ PHENOBARBITAL (n=12)

HL - · - · - · - · - ·

1/4 Jahr (tgl. 0,5% 1 Std. p.i. + tgl. 50 mg/kg p.o.)

+ tgl. 50 mg/kg p.o.)

1/2 Jahr (1/4 J. tgl. 0,5% 1 Std. p.i. + tgl. 50 mg/kg p.o.)

(1/4 J. tgl. 0,5% 1 Std. p.i. + tgl. 200 mg/kg p.o.)

DIMETHYLNITROSAMIN

DD ······

1/4 Jahr (tgl. 1 mg/kg p.o.)

(1/4 J. tgl. 1 mg/kg p.o.)

1/2 Jahr

(1/4 J. tgl. 4 mg/kg p.o.)

PHENOBARBITAL

+ DIMETHYLNITROSAMIN (n=12) LD · - - - - ·

1/4 Jahr (tgl. 50 mg/kg p.o.)

+ tgl. 1 mg/kg p.o.)

(1/4 J. tgl. 50 mg/kg p.o. + tgl. 1 mg/kg p.o.)

(1/4 J. tgl. 200 mg/kg p.o. + tgl. 4 mg/kg p.o.)

HALOTHAN

+ DIMETHYLNITROSAMIN (n=6) HD · - - - - ·

1/2 Jahr (tgl. 0,5% 1 Std. p.i.)

+ tgl. 1-4 mg/kg p.o.)

KONTROLLEN

1/4 Jahr

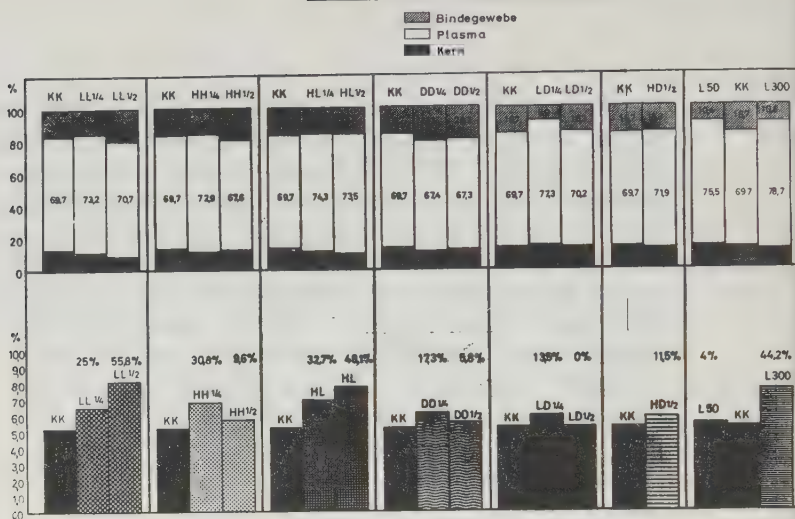
1/2 Jahr

Kontrollen wird hier vermißt. Unter der Dosis von 50 mg pro kg steigt das absolute Lebergewicht nach einem Vierteljahr um 77% (82%) und bleibt relativ mit 46 mg/g im Bereich der Kontrollen. Nach 150-200 mg/kg hat sich bei Halbjahresende das Lebergewicht mit 3217 mg (maximal 3750 mg) bei einem weiteren Zuwachs von 222% (108%) um gut das Dreifache des Ausgangswerts vermehrt (Tab. 6 und 9). Auch relativ wird der Vergleichswert im ersten Quartal nicht überschritten, während er ihn nach dem zweiten Vierteljahr mit 80,3 mg (maximal 89,7 mg) um 61% hinter sich läßt (Abb. 2 ; Tab. 7).

3) Wachstumsanalyse der Leber.

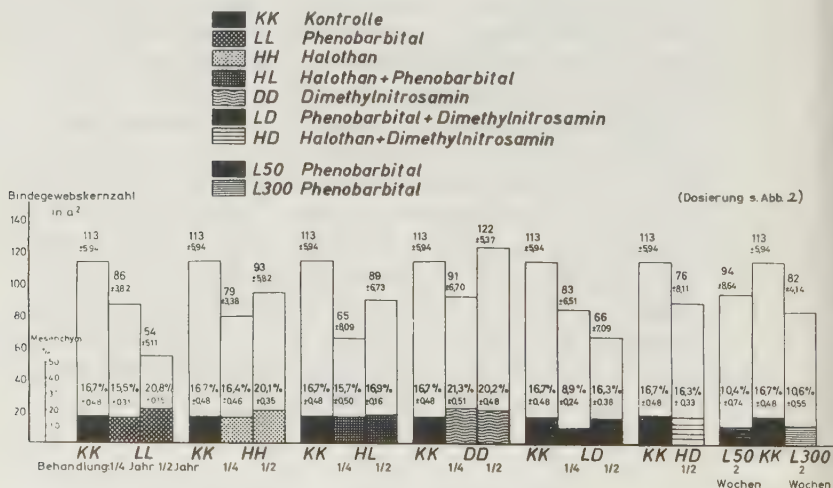
a) Leberzellzahl X in a^2 .

Bei der geringen Dosierung hat sich für das Lebergewicht im ersten Quartal keine Abweichung von der Norm ergeben. X in a^2 hingegen ist deutlich vermindert (im Mittel 93 Zellen, Tab. 9 und Abb. 9 und 10) und bedeutet mit -32° 72% Hypertrophie und, auf den Scheitel -22° bezogen, mehr Hypertrophie als Zellvermehrung. Nach einem halben Jahr kommt das Ergebnis mit 50 Zellen unter Bezug auf den Ausgangswert bei -41° = 89% Hypertrophie einem Leberwachstum durch alleinige Zellvolumenvergrößerung sehr nahe. Bezieht man den Halbjahreswert auf das Vierteljahresergebnis, so ergibt sich ein Winkel von -45° = 100% Hypertrophie, das heißt die Leber vergrößert sich im zweiten Quartal durch reines Volumenwachstum der Zelle. Im Vergleich mit den Kontrollen zeigt sich also in beiden Fällen eine Verschiebung zugunsten der Hypertrophie. Der Anteil der doppelkernigen Zellen ist mit 16% (17%) nahezu kontrollgleich (Tab. 8 und 9 ; Abb. 7 und 10).



Plasma-Kernrelation in %.

Vergleich zwischen Bindegewebskernzahl in a^2 und dem prozentualen Flächenanteil des Mesenchyms (Extrazellulär- und Kapillarraum) Abb. 9



b) Plasma-Kern-Relation.

Die Plasma-Kern-Relation steht offensichtlich in keiner Abhängigkeit von Hypertrophie oder Zellvermehrung. Sie geht in ihrer Verlaufsform mit dem relativen Lebergewicht konform und verschiebt sich mit zunehmender Behandlungsdauer durch Plasmavermehrung vorwiegend infolge relativer Verkleinerung der Kernfläche mit 6,5% (5,2%) um 25% im ersten Quartal, mit 8,1% um 55,8% im zweiten Quartal signifikant nach oben (Tab. 9 ; Abb. 8). Die Bindegewebszellfläche ist nach der ersten Versuchshälfte um 15% signifikant verkleinert und bei Versuchsende um 23% signifikant vergrößert. Die Zellzahl des Bindegewebes nimmt mit zunehmender Versuchsdauer um 29% und 51% signifikant ab: auch die Bindegewebszelle vergrößert ihr Volumen (Tab. 9 ; Abb. 9).

Zum Vergleich wurden Präparate aus einem früheren Versuch herangezogen, wo 14 Tage lang 50 mg/kg und 300 mg/kg Phenobarbital p.o. gegeben worden waren und sich im Grad der Veränderungen eine Dosisabhängigkeit herausstellte.

Im Körperwachstum besteht kein Unterschied. Die Leber ist bei der kleinen Dosis mit 1903 mg absolut und 59,3 mg relativ gegenüber 3127 mg absolut und 96,0 mg relativ für die höhere Dosis signifikant schwerer. (Tab. 10 ; Abb. 2).

X in a^2 differiert mit 99 Zellen gegenüber 79 Zellen. Die Plasma-Kern-Relation ist bei niedriger Dosierung normal, bei hoher um 44,2% vermehrt. Während die Kernfläche bei 50 mg/kg im Normalbereich bleibt, ist sie bei 300 mg pro kg um 20% verkleinert. Die Plasmafläche hat entsprechend der Zellvergrößerung in beiden Fällen zugenommen, der Bindegewebsraum und die Bindegewebszellzahl haben abgenommen (Tab. 10).

Kurz- und Langzeitversuch zeigen Leberzellvergrößerungen, relative Kernflächenverkleinerung mit Plasmavermehrung

und erhöhte Kern-Plasma-Relation gemeinsam, die bindegewebige Reaktion hinkt jedoch beim 14-Tage-Versuch der Leberzellhypertrophie nach (Tab. 10 ; Abb. 8 und 9).

C Ergebnisse nach Behandlung mit Halothan.

Der Allgemeinzustand der Tiere blieb unauffällig, vielleicht war das Fell bei Versuchsende eine Spur struppiger geworden.

Die Leber wies nach beiden Versuchsabschnitten schon makroskopisch deutliche Verfettung mit gelblicher Färbung auf. An den übrigen Organen bestanden keine pathologischen Veränderungen.

1) Körpergewicht.

Das Körpergewicht erfährt zunächst eine deutliche Hemmung. Der erste Vierwochenanstieg beträgt nur 35% (50%). Die zweite Quote hat mit 28% (15%) Zuwachs aufgeholt und der Kontrollwert ist so gut wie erreicht. Von nun an bleiben aber die Gewichte hinter der Norm zurück und nach Ablauf eines Vierteljahres liegen sie mit ihrem Gesamtzuwachs von 78% (90%) signifikant um 7% unter den Kontrollen, bei Versuchsende nach einem halben Jahr mit 99% (108%) noch 4% signifikant darunter. Insgesamt besteht also keine erhebliche Hemmung des Körperwachstums, wenn bedacht wird, daß die Konzentration des Gases - obwohl subnarkotisch - durch zeitweilige Somnolenz die Freßlust beeinträchtigt haben könnte (Tab. 5 und 11 ; Abb. 13).

2) Lebergewicht.

Das Lebergewicht hat in dieser Serie im Vergleich mit den Kontrollen ein völlig anderes Gesicht. Bereits im ersten Vierteljahr steigt es von 1000 mg auf 2860 mg

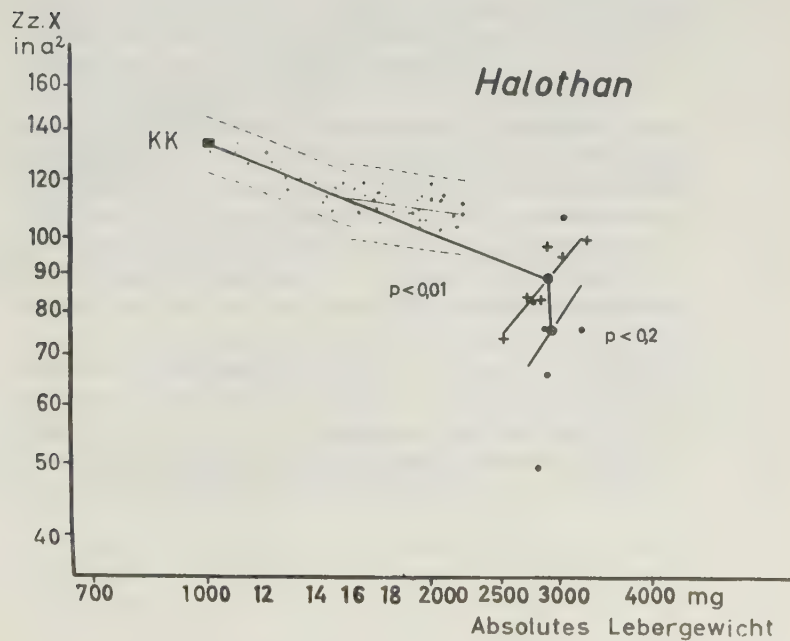
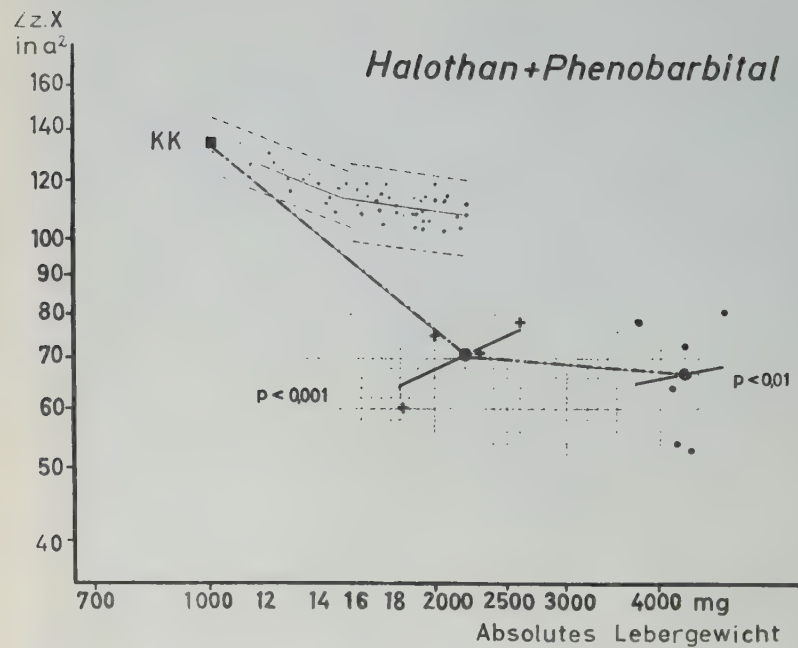
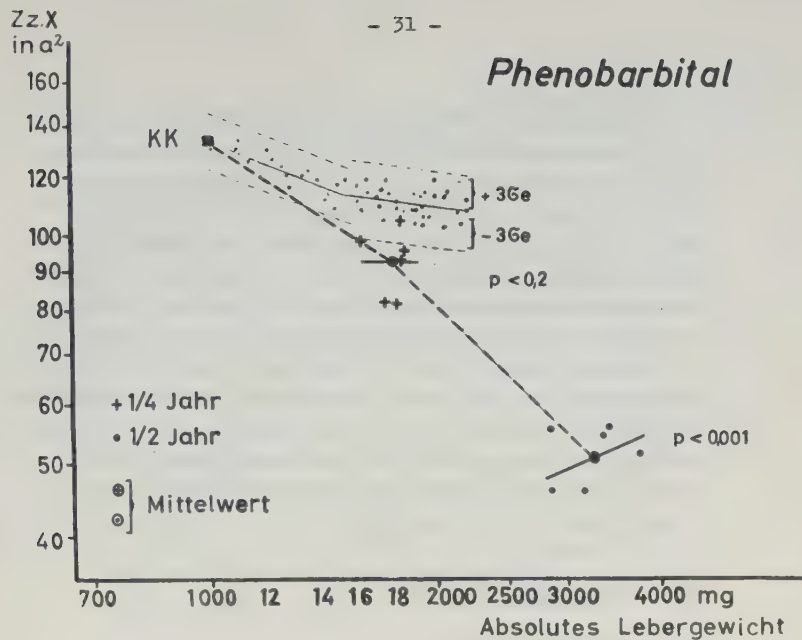


Abb. 10, 11 und 12: Veränderungen der Leberzellzahl X in a^2 nach 1/4- und 1/2 jähriger Behandlungsdauer.

- + 1/4 jähriger Einzelwert
- ⊕ 1/4 jähriger Mittelwert
- 1/2 jähriger Einzelwert
- ⊙ 1/2 jähriger Mittelwert
- Regressionsgerade

(= 186% Zuwachs) auf fast das Dreifache, während trotz gleichbleibender Konzentration des Inhalationsgases nach dem zweiten Vierteljahr nur noch ein Mehrgewicht von 2% (2928 mg = 193%) zustande kommt (Abb. 2 ; Tab. 6 und 11). Gegenüber den Kontrollen beträgt der Unterschied nach dem ersten Vierteljahr 56% und nach dem zweiten 40%. Das Ausgangsgewicht hat sich bei Versuchsende verdreifacht. Die relativen Werte liegen nach dem ersten Quartal mit 78,9 mg/g um 58%, nach dem zweiten Quartal mit 74,5 mg/g um 49% über dem Normalgewicht. Auffallend ist die rückläufige Tendenz, so daß sich zunächst die Frage stellt, ob die Vergrößerung durch Gewöhnung und Adaptation zum Stillstand gekommen ist (Tab. 7 und 11 ; Abb. 2).

3) Wachstumsanalyse der Leber.

a) Leberzellzahl X in a^2 .

Nach der vierteljährlichen Behandlung halten sich Zellvergrößerung und -vermehrung mit 89 Zellen und -21° = 48% Hypertrophie etwa die Waage. Die Halbjahreswerte mit 76 Zellen und -27° = 60% Hypertrophie weisen auf eine weitere Zellvergrößerung hin. Im ersten Fall bleibt, abgesehen von der insgesamt erheblich gesteigerten Lebervergrößerung, der Wachstumstrend der kleinen Kontrolllebern erhalten (Abb. 7), während später bei fast stagnierendem Leberwachstum nur noch Zellvergrößerung vorzuliegen scheint. Legt man bei der Beurteilung die Winkeländerung zwischen erstem und zweitem Quartal zugrunde, so ergeben sich für den Halbjahreswert -78° , was einer geradezu grotesken Zellvergrößerung entsprechen würde. In diesen Präparaten finden sich aber zahlreiche karyolytische Kerne und kernlose Zellen, so daß die an den Kernen gemessene Zellzahl nicht mehr repräsentativ für den tatsächlichen Zahlenwert sein

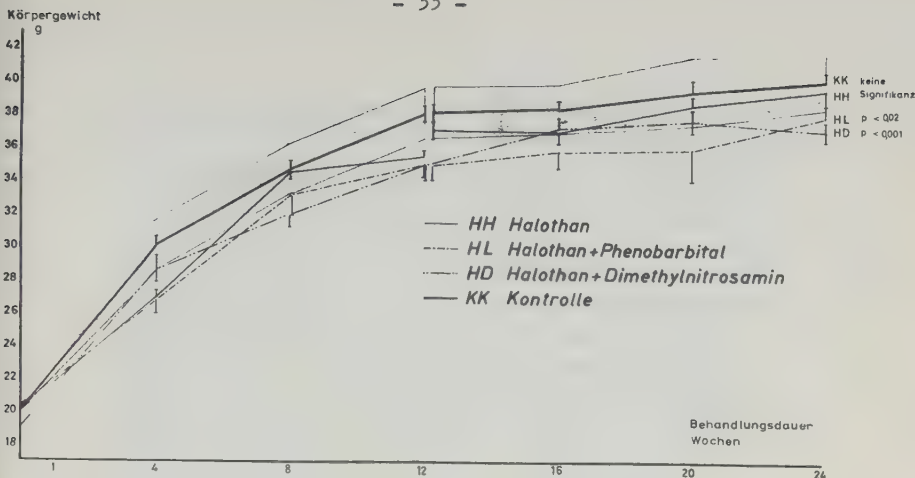


Abb. 13: Beeinflussung des Körpergewichts durch chronische Behandlung mit Halothan und der Kombination mit Phenobarbital und Dimethylnitrosamin.

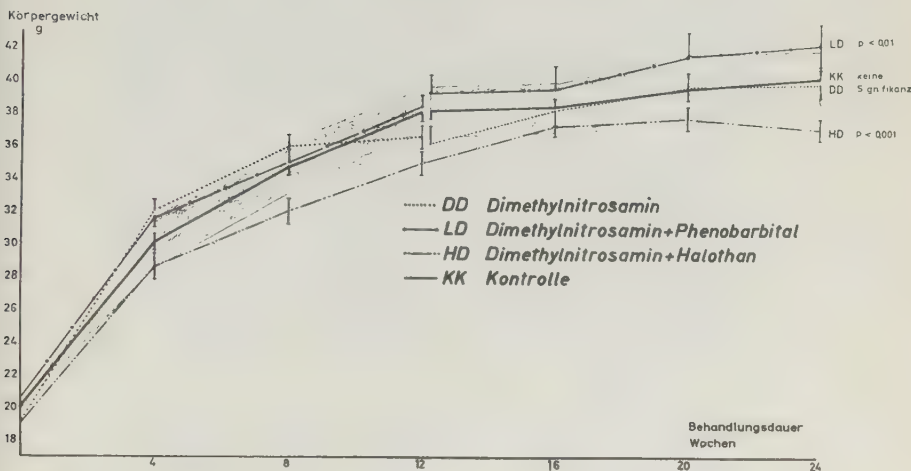


Abb. 14: Beeinflussung des Körpergewichts durch chronische Behandlung mit Dimethylnitrosamin und der Kombination mit Phenobarbital und Halothan.

kann und die Zuordnung zur Volumenvergrößerung oder Zellvermehrung mißlingt (Tab. 8 und 11 ; Abb. 11).

Der Anteil der Doppelkernigen ist mit 13% (17%) zurückgegangen.

b) Plasma-Kern-Relation.

Die Plasma-Kern-Relation ist wie das relative Lebergewicht nach dem ersten Quartal mit 6,8% infolge relativer Verkleinerung der Kernfläche und des Bindegewebes um 30,8% angestiegen und geht bei Versuchsende mit nur 9,6%iger Vergrößerung des Kontrollwertes durch Umkehrung des Vorgangs (Vermehrung der Kern- und Bindegewebsfläche) auf 5,7% zurück. Das Bindegewebe weicht nach dem ersten Viertel nicht vom Vergleichswert ab, die Zellzahl ist aber um 28% herabgesetzt, so daß eine Volumenvergrößerung der Bindegewebszelle resultiert. Bei Versuchsende ist das Bindegewebe signifikant um 20% vermehrt, woraus bei 15% Zellzahlverminderung ebenfalls eine Zellvergrößerung abzuleiten ist (Tab. 11 ; Abb. 8 und 9).

D Ergebnisse nach kombinierter Behandlung mit Halothan und Phenobarbital.

Gegen Versuchsende wurde das Fell dieser Tiere im Vergleich zu den Kontrollen deutlich struppig. Ansonsten aber bestand kein Anhalt für einen krankhaften Allgemeinzustand.

Am Sektionsbefund fiel schon makroskopisch die starke Vergrößerung der Leber mit gelblicher Fettfärbung auf. Die übrigen Organe boten keine sichtbare Veränderung.

1) Körperwachstum.

Die auffälligste Wachstumshemmung aller Versuchsserien findet sich bei dieser Kombination, wenngleich das Gesamtbild des kontinuierlichen Wachstums nicht gestört ist. Die Vierwochenwerte des ersten Vierteljahres zeigen mit Zuwachsquoten von 31% (50%), 24% (15%) und 6% (10%) eine vor allem anfänglich mäßige Verzögerung. Mit 72% (90%) Gesamtzuwachs werden die Vergleichswerte nicht mehr eingeholt und das erste Quartal endet mit einem Defizit der absoluten Werte von 15,5% (Tab. 6). Von einer Anpassung wie bei Halothan kann nicht mehr die Rede sein. Die Kurve bleibt bis zum Schluß signifikant unter den Kontrollen und der Abstand beträgt bei Versuchsende 11,5% (Abb. 13 ; Tab. 5 und 12).

2) Leberwachstum.

Auch die Lebervergrößerung erreicht extreme Werte. Im ersten Quartal mit nur geringer Phenobarbitaldosierung liegen die absoluten und relativen Gewichte noch hinter den reinen Halothanergebnissen. Nach dem zweiten Vierteljahr mit der höheren Phenobarbitaldosierung ist das absolute Gewicht vervierfacht (im Durchschnitt 4305 mg, maximal 4860 mg) und auch relativ ist das Mittel mit 113 mg/g (maximal 125 mg/g) nahezu viermal größer. Dieses Ergebnis spricht für eine additive Wirkung von Halothan und Phenobarbital (Abb. 2 ; Tab. 6 , 7 und 12).

3) Wachstumsanalyse der Leber.

a) Leberzellzahl X in a^2 .

Hierbei zeigt sich in den beiden Phasen ein grundverschiedener Wachstumsmodus (Tab. 8 und 12 ; Abb. 7 und 12). Nach dem ersten Quartal ist mit 71 Zellen und $-38^\circ = 84\%$ Hypertrophie bereits eine erhebliche Zellvergrößerung eingetreten, die nach dem zweiten Quartal rückläu-

fig wird und zwar noch 67 Zellen aber $-25^{\circ} = 56\%$ Hypertrophie aufweist. Der Winkel von $-3^{\circ} = 8\%$ Hypertrophie zwischen erstem und zweitem Quartalswert führt zu dem Schluß, daß vornehmlich eine Zellvermehrung die enorme Lebervergrößerung verursacht hat. Doch entspricht diese Folgerung wiederum nicht dem histologischen Bild. Die bei der Zählung unberücksichtigt gebliebenen zentralen Zellen sind stark vergrößert, während sich von der Intermediärzone zur Peripherie hin eine zunehmende Verkleinerung der Zellen zeigt. Es bestehen demzufolge Hypertrophie und Hyperplasie mit verschiedener Lokalisation innerhalb ein und desselben Hepatons. Auch der Anteil der Doppelkernigen läßt mit 13% (17%) nicht auf gesteigerte Vermehrung schließen.

b) Plasma-Kern-Relation.

Die Plasma-Kern-Relation steigt bis 6,9% und 7,7% um 32,7% und 48,1% in den beiden Abschnitten signifikant an. (Plasmavermehrung durch relative Abnahme der Kernfläche - Abb. 8 und 9 ; Tab. 12) Da sich der Bindegewebsraum nur unwesentlich verändert, die Bindegewebszellzahl aber abnimmt, resultiert wiederum eine Zellvolumenvergrößerung.

E Ergebnisse nach Behandlung mit Dimethylnitrosamin.

Der Zustand des Felles zeigte gegenüber den Kontrollen keinen Unterschied.

Die Lebern hatten bei der Sektion eine glatte Oberfläche, waren dunkelrot gefärbt und boten makroskopisch

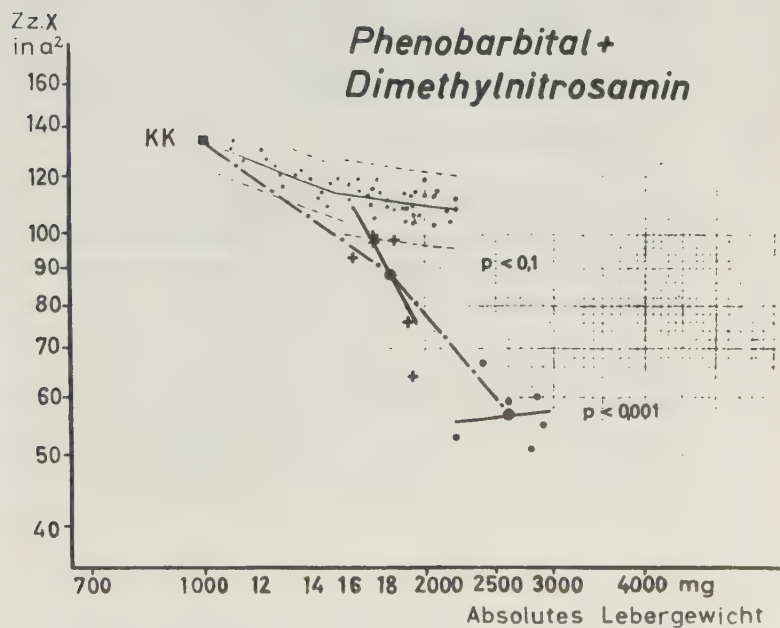
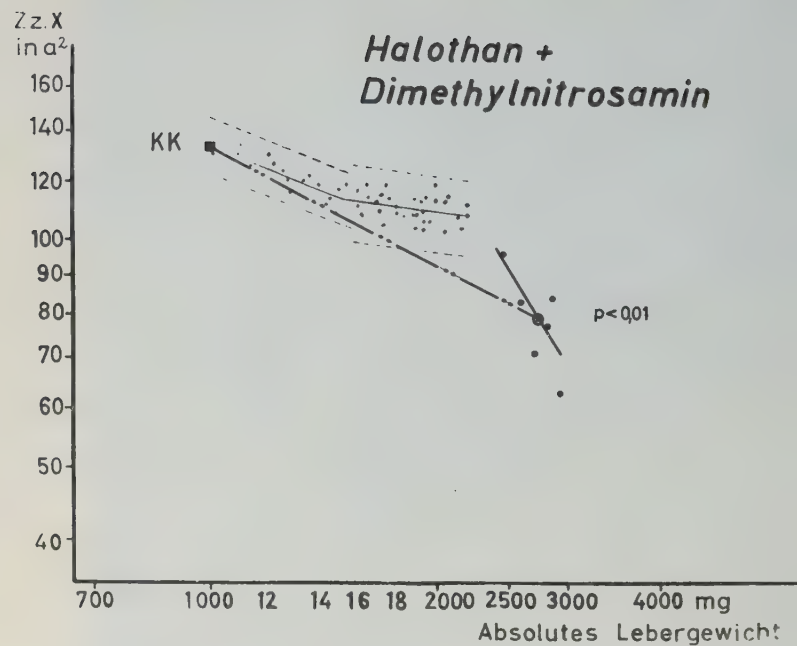
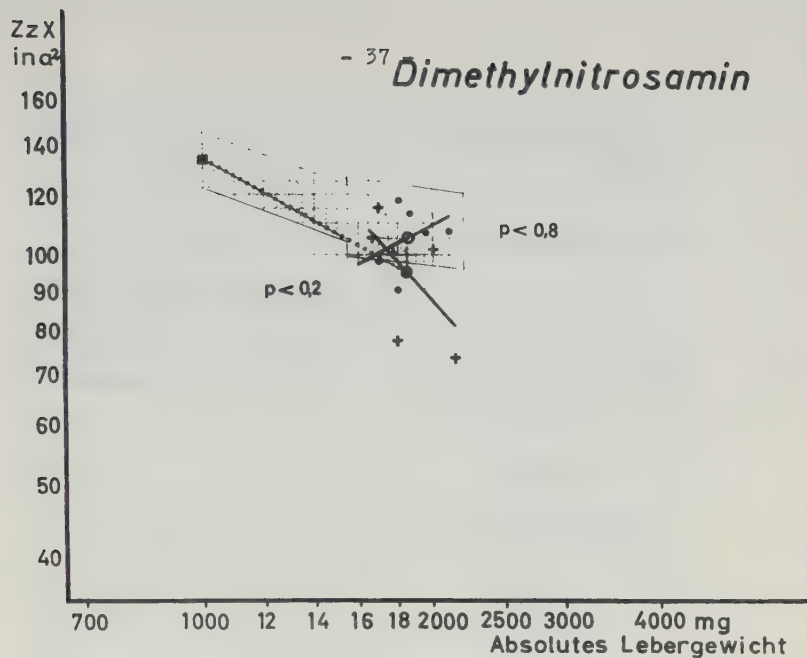


Abb. 17: Veränderungen der Leberzellzahl $\bar{X}$ in a² nach 1/2 jähriger Behandlung.

- Einzelwert
- ⊙ Mittelwert
- Regressionsgerade

Abb. 15
und

Abb. 16: Veränderungen der Leberzellzahl $\bar{X}$ in a² nach 1/4- und 1/2 jähriger Behandlungsdauer.

- + 1/4 jähriger Einzelwert
- ⊙ 1/4 jähriger Mittelwert
- 1/2 jähriger Einzelwert
- ⊙ 1/2 jähriger Mittelwert
- Regressionsgerade

keine Besonderheiten. Auch die übrigen Organe erschienen normal.

1) Körpergewicht.

Das Körperwachstum verläuft im wesentlichen im Bereich der Kontrollen. Die Zuwachsquoten verhalten sich ähnlich wie bei Luminal: stärkerer Initialzuwachs von 68% (50%) (Ausgangsgewicht 19 g !) und geringe Beschleunigung im zweiten Quartal (Abb. 14 ; Tab. 5 und 13).

2) Lebergewicht.

Das Leberwachstum wird bei der hier angewandten Dosierung durch Dimethylnitrosamin nicht wesentlich beeinträchtigt. Die Gewichte bleiben durchweg sowohl absolut als auch relativ im Bereich der Kontrollen und verhalten sich proportional zum Körperwachstum mit kontrollgleicher Verdoppelung des absoluten Wertes nach einem halben Jahr (Tab. 6 und 7 ; Abb. 2).

3) Wachstumsanalyse der Leber.

a) Leberzellzahl X in a^2 .

Auch hier findet sich keine bedeutende Abweichung von der Norm: im ersten Quartal mit 95 Zellen und -28^0 = 62% Hypertrophie ein leichtes Überwiegen der Zellvergrößerung, die in der zweiten Versuchshälfte mit 105 Zellen und -19^0 = 43% Hypertrophie in Zellvermehrung umschlägt (Tab. 8 und 13 ; Abb. 7 und 15).

Die Einzelwerte der beiden Versuchsabschnitte überschneiden sich, die Schwerpunkte sind aber jeweils durch die Regressionsgerade gekennzeichnet, so daß sich die Kollektive trotz Annäherung noch auseinander halten lassen. Die Einzelpunkte der beiden

Phasen konzentrieren sich jedoch bis auf 2 Extremwerte des ersten Quartals um ein begrenztes Areal, das in die Kontrollergebnisse eingereicht werden kann.

Auch der Anteil der Doppelkernigen ist kontrollgleich.

b) Plasma-Kern-Relation.

Das relative Lebergewicht bleibt in beiden Versuchsperioden im Streubereich der Kontrollen, während die kleine Dimethylnitrosamindosis die Plasma-Kern-Relation mit 6,1% nach dem ersten Quartal durch Plasmainderung infolge von Bindegewebsvermehrung und relative Verkleinerung der Leberzellkernfläche um 17,3% erhöht. Bei Versuchsende ist zwar der Bindegewebsanteil erhöht, Kern- und Plasmafläche aber bleiben unverändert und die Plasma-Kern-Relation fällt in den Bereich der Norm. Die Bindegewebsfläche vergrößert sich nach einem Vierteljahr mit Signifikanz um 27%, nach einem Halbjahr um 21%. Die Bindegewebszellzahl geht im 1. Quartal um 17% zurück und vermehrt sich im 2. Viertel um 11%, also zunächst eine Volumenzunahme, die unter der höheren Substanzdosierung in echte Zellvermehrung übergeht (Tab. 13 ; Abb. 8 und 9).

F Ergebnisse nach kombinierter Behandlung mit Phenobarbital und Dimethylnitrosamin.

Im äußeren Aussehen der Tiere fiel wieder das leicht struppige Fell auf.

Die Lebern waren glatt und dunkelrotfarben. In einem Fall fand sich ein kleinerbsgroßer Solitärknoten am rechten Leberlappen.

Die übrigen Organe wiesen makroskopisch keine Veränderungen auf.

1) Körpergewicht.

Die Wachstumskurve verläuft von Anfang bis Ende oberhalb der Kontrolle und hält den um 0,5-0,7 g höheren Abstand des Ausgangswerts in etwa bis zum Abschluß des ersten Quartals. Die zweite Vierteljahresrate vergrößert mit 10% (6%) Zunahme den Abstand von der Kontrollkurve und wird mit dem Endwert sogar signifikant. Das etwas höhere Anfangsgewicht dürfte dafür nicht die alleinige Ursache darstellen. (Tab. 5 und 14 ; Abb. 14)

2) Lebergewicht.

Nach einem Vierteljahr Behandlung befinden sich absolutes und relatives Lebergewicht noch im Streubereich der Kontrollen (Abb. 2 ; Tab. 6 und 14). Nach einem halben Jahr und Dosiserhöhung hat sich das absolute Gewicht mit 2648 mg verzweieinhalbfacht und die Kontrollen um 27% überrundet. Relativ ergibt sich eine Zunahme um 29%, das entspricht 31% mehr als bei den Kontrollen (Abb. 2 ; Tab. 7 und 14). Die Kombination der beiden Substanzen koppelt die hemmende Wirkung von Dimethylnitrosamin und die Vermehrungskomponente des Phenobarbitals, wobei im ersten Vierteljahr der Hemmungseffekt des Dimethylnitrosamins mit einer Abnahme des relativen Gewichts um 19% (ohne Signifikanz) auffällt, während im zweiten Quartal mit signifikanten Zunahmen von absolutem und relativem Gewicht um 165% und 29% offenbar der Vermehrungstrend des Phenobarbitals vorherrscht.

3) Wachstumsanalyse der Leber.

a) Leberzellzahl $\bar{X}$ in a^2 .

Nach beiden Versuchsperioden ergeben sich ähnliche Verhältnisse wie beim Phenobarbital: 88 Zellen und

-34° = 76% Hypertrophie - also eine Diskrepanz zwischen Leberwachstum und zellulärer Reaktion - nach der ersten Versuchshälfte, 75 Zellen und -41° = 89% Hypertrophie nach der zweiten Hälfte, so daß in beiden Abschnitten - anders als beim Lebergewicht - die Phenobarbitalwirkung des Ergebnis weitgehend bestimmt (Abb. 7 und 16 ; Tab. 8 und 14). Der Anteil der Doppelkernigen ist mit 13% (17%) vermindert.

b) Plasma-Kern-Relation.

Das gewebsanteilmäßige Verhalten läßt sich weder dem Luminal noch dem Dimethylnitrosamin zuordnen. Hier bestehen wohl komplexe Angriffspunkte, welche zu zellmorphologischen Veränderungen geführt haben, die mit der Methode nicht mehr zu erfassen sind. Die Plasma-Kern-Relation ist in der ersten Phase um 13,5% signifikant erhöht und entspricht in der zweiten Phase der Norm (Abb. 8 ; Tab. 14). Die Plasmafläche hat sich in der ersten Periode um 11% vermehrt, das Bindegewebe um 34% vermindert. Beide Werte sind signifikant. (Die Halbjahreswerte sind wieder kontrollgleich.) Die Bindegewebszellzahl nimmt mit zunehmender Versuchsdauer um 24% und 34% ab. Damit vergrößert sich das Zellvolumen in abgeschwächter Stärke wie bei Phenobarbital. (Abb. 9)

G Ergebnisse nach kombinierter Behandlung mit Halothan und Dimethylnitrosamin.

Das äußere Erscheinungsbild der Tiere unterschied sich kaum von den Vergleichstieren. Die Lebern waren vergrößert und hellgelb gefeldert, die Oberfläche aber glatt. An allen übrigen Organen zeigten sich keine Auffälligkeiten.

1) Körpergewicht.

Die Wachstumskurve verhält sich in ihrem Verlauf wie die Kontrollen mit 50%igem Initialanstieg und allmählicher Abnahme der Zuwachsquoten (Tab. 5 und 15 ; Abb. 14), liegt aber bis auf eine kurze Strecke im zweiten Quartal durchweg signifikant, bei Versuchsende um 8%, unterhalb der Kontrollen.

2) Lebergewicht.

Die Lebervergrößerung erreicht nach einem halben Jahr eine Zunahme von 2745 mg entsprechend 174% (108%) Zuwachs, relativ ergeben sich 76,0 mg mit 52% signifikanter Steigerung. Diese Daten decken sich mit den reinen Halothanwerten, die Vermehrung geht also eindeutig auf das Konto des Halothans. (Abb. 2 ; Tab. 6 , 7 und 15)

3) Wachstumsanalyse der Leber.

a) Leberzellzahl $\bar{x}$ in a^2 .

Das halbjährige Ergebnis folgt dem Verlauf der vierteljährigen Dimethylnitrosamingeraden mit 79 Zellen, $-27^\circ = 60\%$ Hypertrophie, entspricht aber auch der halbjährigen Halothanrichtung (halbjähriger Wert auf den Ausgangswert bezogen).

Der Prozentsatz der Doppelkernigen ist mit 13% (17%) dem Halothanwert gleich.

b) Plasma-Kern-Relation.

Wie bei der Kombination Pherobarbital + Dimethylnitrosamin läßt die zahlenmäßige Gewebserfassung keine sicheren Schlußfolgerungen zu. Der Kernanteil ist um 20% vermindert, so daß sich eine um 11,5% erhöhte Plasma-Kern-Relation ergibt. Die übrigen Gewebsanteile

entsprechen den normalen Verhältnissen. Die Bindegewebsfläche bleibt im Kontrollbereich, die Bindegewebszellzahl ist um 31% herabgesetzt und daraus ergibt sich wieder eine Zellvolumenvergrößerung, die das Halothan allein ebenfalls aufzuweisen hat. (Tab. 15 ; Abb. 9)

Die Erhebungen sind insgesamt nicht sehr gravierend, und doch sind Zellveränderungen vorhanden, die sich der Diagnose Hypertrophie-Hyperplasie entziehen.

H Histologische Befunde.

Die Scharlachrotfärbung ergibt nach allen Halothan- und mit Halothan kombinierten Versuchen eine Vermehrung des Fettgehaltes der Leber. Die Halothan + Phenobarbital-Präparate enthalten sehr viel, die reinen Halothanschnitte viel Fett und Halothan + Dimethylnitrosamin weist den geringsten Gehalt auf, der aber auch noch als reichlich bezeichnet werden kann. Alle übrigen Präparate sind frei von histologisch darstellbarem Fett.

Die Verfettung ist fein- bis grobtropfig und in den zentralen Läppchenanteilen am stärksten ausgeprägt. Sie nimmt über die Intermediärzone nach peripher ab, die Glissonschen Dreiecke sind weitgehend frei. Zwischen Viertel- und Halbjahresversuchen besteht kein nennenswerter Unterschied.

Im Glykogengehalt der Versuchsleber zeigt die PAS-Reaktion nach dem ersten Quartal gegenüber den Kontrollen eine Verminderung, bei Halothan und Dimethylnitrosamin nur geringgradig, bei Halothan + Phenobarbital jedoch ganz erheblich. Nach dem zweiten Quartal ist die Glykogenabnahme in allen Versuchspräparaten deutlich, vornan wieder Halothan + Phenobarbital, wo fast gar kein Glykogen mehr zu finden

ist. Auch bei Phenobarbital + Dimethylnitrosamin sowie Halothan + Dimethylnitrosamin ist eine starke Verminderung erfolgt.

Nach allen Versuchen treten gehäuft glykogenfreie Einzelzellen im Stadium der Mitose oder Amitose als Zeichen gesteigerter Zellmauserung auf und die Halbjahrespräparate lassen mit Ausnahme der Phenobarbital-schnitte auch vereinzelt Kernglykogen erkennen.

Die Zellgröße variiert nach dem ersten Quartal von Versuch zu Versuch (s. Einzelergebnisse), ist aber innerhalb eines Leberläppchens durchaus gleichmäßig. (Die Dosierung von Phenobarbital und Dimethylnitrosamin war zu diesem Zeitpunkt noch schwach.) Nur bei Halothan + Phenobarbital verändern sehr große zentrale Zellen das homogene Bild.

Nach dem zweiten Quartal wird das Zellbild der Versuchshebern generell sehr unruhig, doch bleibt die Läppchenstruktur erhalten. Insbesondere zentral und intermediär finden sich jetzt bei den Kombinationen Phenobarbital + Dimethylnitrosamin, Halothan + Dimethylnitrosamin und Halothan + Phenobarbital, aber auch bei reinem Phenobarbital, außerordentlich große Zellvolumina und große Kerne mit vermehrten Nucleoli. Einheitlich und den Kontrollen am ähnlichsten erscheint das Zellbild der Dimethylnitrosaminpräparate. Auch bei Halothan variiert die Zellgröße innerhalb des Hepatons nicht so stark. Trotzdem ergibt sich durch pyknotische und karyolytische Kerne und verdämmerte Leberzellen ein unruhiges Gefüge. Einzelzellnekrosen sind ebenfalls in allen Schnitten zu finden. Dimethylnitrosamin fällt außerdem durch Gallengangswucherungen auf.

Abb. 18 veranschaulicht das Verhältnis der mittleren Zellgröße der Halbjahresgruppen zu den Kontrollen und spiegelt das gefundene Zahlenergebnis der Tabellen 9,

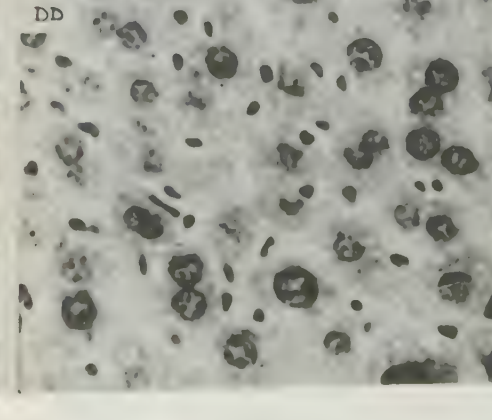
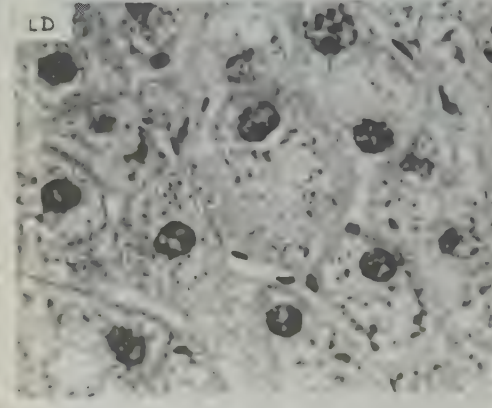
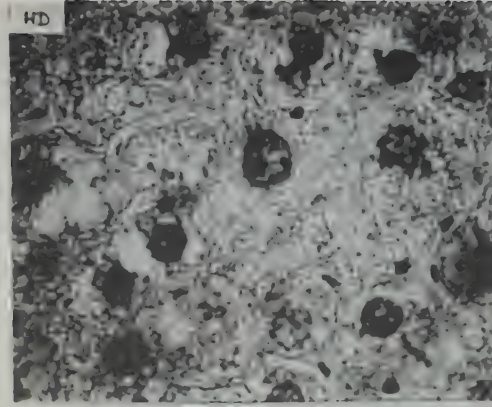
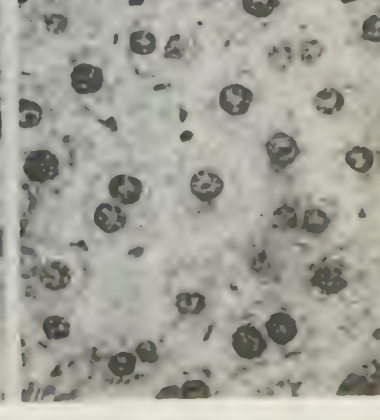
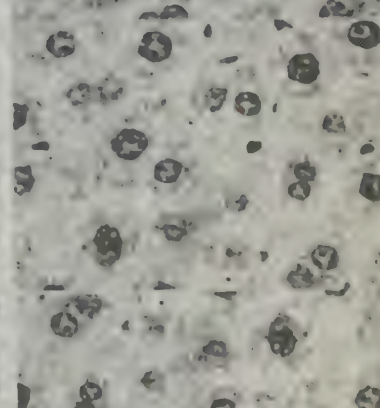
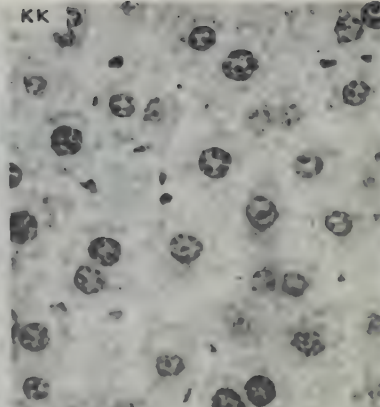
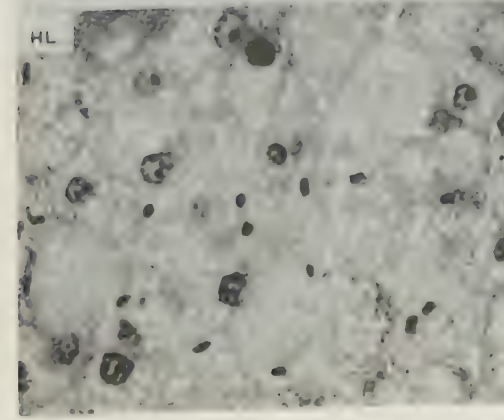
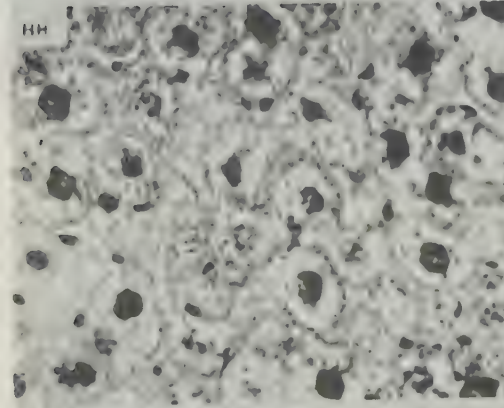
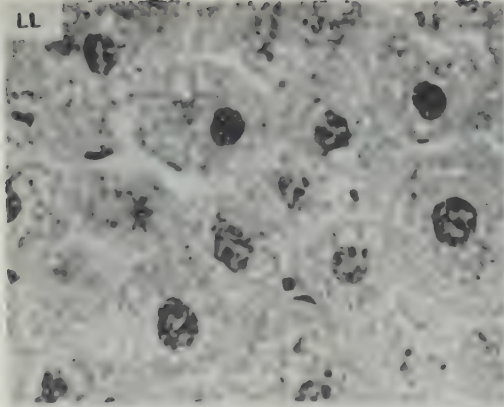


Abb. 14: Mittlere Leberzellgröße nach 1/2 Jahr
 Gefütterung
 Schnittdicke: 7,5 μ ; HE-Färbung
 Vergrößerung: Obj. 40 1:987
 (bei allen Aufnahmen gleich)

11-15 und Abbildungen 7, 10-12 und 15-17 wider. Das Gitterquadrat entspricht etwa der dreifachen Bildfläche. Die dreifache Zellzahl der Bilder verhält sich dann zum Zählergebnis wie folgt:

	Abbildung	Gitterquadrat
KK	111	109
LL	48	50
HH	75	76
HL	60	67
DD	102	105
LD	56	57
HD	72	79

An Milz und Niere treten keine pathologischen Veränderungen auf.

IV Diskussion

Die erstmals an Normallebern ü b e r 1500 mg durchgeführte Analyse bestätigt das von Linzbach angenommene „kritische Gewicht“ und das nach Überschreiten dieses Gewichts beginnende Teilungswachstum der Parenchymzellen. Bezeichnend ist, daß das Extraparenchym trotz des veränderten Parenchymverhaltens weiterhin durch gleichbleibende Zellvermehrung wächst und die Plasma-Kern-Relation konstant bleibt.

Die Phenobarbitallebern erzielen ihr hohes Gewicht fast ausschließlich durch Volumenwachstum der Zelle. Diese Zellvergrößerung kann mit der von Remmer und Merker nachgewiesenen Zunahme des endoplasmatischen Retikulums in Verbindung gebracht werden. Der Extraparenchymraum macht im Gegensatz zum Kurzzeitversuch

(4 Wochen) dieses Volumenwachstum der Einzelzelle mit. Die Plasma-Kern-Relation zeigt nicht mehr die extreme Vergrößerung wie beim Vierwochenversuch und intraperitonealer Applikation. Vergleichbare Werte aus einem Kurzzeitversuch (4 Wochen) mit peroraler Verabreichung liegen uns leider nicht vor, so daß die Deutung der Differenz zu unseren niedrigeren Ergebnissen nicht möglich ist.

Bei Halothan, das keine mikrosomale Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums hervorruft, sondern primär Veränderungen an den Mitochondrien setzt (Niessing, J., Schaudé, G., Siess, M., Vogell, W. - unveröffentlichte Befunde) ist an der Volumenzunahme Neutralfett beteiligt. Die halbjährigen Halothan-lebern stellen infolge der schädigenden Wirkung der Substanz auf Kern und Plasma mit durch Kernzerstörung reduzierter Kernzahl das histometrische Ergebnis in Frage.

Das Dimethylnitrosamin verhält sich völlig anders. Angewandte Dosierung und histometrische Methode erbringen keine wesentlich von der Norm abweichenden Veränderungen. Die ausgebliebene Cirrhosenbildung läßt jedoch auf zu niedrige Dosisanwendung schließen. Daß eine pathologische Wirkung vorliegt, geht aus der histologisch feststellbaren Gallengangsproliferation hervor.

Bei der Kombination Halothan und Phenobarbital überwiegt im ersten Versuchsquartal die Wirkung des Phenobarbitals mit starker Zellvergrößerung. Im zweiten Quartal bringen die Zählergebnisse ein gesteigertes Vermehrungswachstum zutage, was bei den sehr voluminösen Lebern mit inzwischen auch vergrößerten Läppchen dem tatsächlich abgelaufenen Vorgang nicht mehr gerecht wird, da die zentral

großen und die peripher kleinen Zellen vom Meßquadrat nicht erfaßt sind. Die Plasma-Kern-Relation hat weiter zugenommen, wohingegen eigentlich beim Vermehrungswachstum eine Verkleinerung zu erwarten gewesen wäre.

Die Deutung der Kombinationen Phenobarbital + Dimethylnitrosamin und Halothan + Dimethylnitrosamin ist von der ermittelten Kerndichte her schwierig. In beiden Fällen kommt es im Läppchenzentrum zur Ausbildung von riesigen Zellen, während diese in der Peripherie größenmäßig unverändert bleiben. In beiden Gruppen treten Einzelzellnekrosen auf. Außerdem findet sich in beiden Kombinationen je ein Präparat, das auf ein proliferatives Wachstum hinweisende Veränderungen zeigt.

V Zusammenfassung

An 120 männlichen weißen Mäusen wurden im Langzeitversuch von 1/4 und 1/2 Jahr Dauer Körper- und Leberwachstum untersucht und nach der Methode von Siess und Stegmann und mit Hilfe des Integrationstisches das normale Leberwachstum und die Lebervergrößerung nach chronischer Fremdstoffeinwirkung (Phenobarbital, Halothan, Dimethylnitrosamin und verschiedene Kombinationen) analysiert.

1.) Das Körperwachstum der Versuchstiere bleibt im großen und ganzen im Streubereich der Kontrollen. Lediglich die mit Halothan kombinierten Phenobarbital- und Dimethylnitrosamingruppen zeigen eine geringe signifikante Wachstumshemmung.

2.) Beim normalen Wachstum der Leber ist die Gewichtszunahme im untersuchten Bereich von 1000 mg bis 1600 mg teils auf Zellvergrößerung, teils auf Zellvermehrung zurückzuführen, während bei den höheren Gewichtsklassen zwischen 1600 mg und 2200 mg die Zellvermehrung überwiegt. Der Gewichtsbezirk um 1500 mg wird als sogenanntes kritisches Gewicht erkannt.

Die Plasma-Kern-Relation liegt für alle Kontrollen bei 5,2%. Das relative Lebergewicht beträgt im Mittel nach 1/4 Jahr 48,4 mg/g, nach 1/2 Jahr 49,3 mg/g.

Sowohl die viertel- als auch die halbjährigen Kontrolllebern liegen jenseits des kritischen Gewichts.

3.) Unter der chronischen Fremdstoffbehandlung kommt es bei den Versuchstieren nach einem Vierteljahr durchweg zu einer Vergrößerung der Leber durch

Volumenzunahme der Einzelzelle, die nach der Kombination von Halothan + Phenobarbital die extremsten Werte erreicht.

Die Plasma-Kern-Relation ist nach diesem Versuchszeitraum ausnahmslos zwischen 15% und 35% signifikant erhöht, zumeist durch Plasmavermehrung infolge relativer Verkleinerung der Kernfläche.

Auch beim Kapillar-Bindegewebs-Extrazellulärraum geht das Wachstum mit einer Vergrößerung der Einzelzellen einher.

Das relative Lebergewicht hat sich nach dem 1. Quartal bei Halothan + Phenobarbital bis zu 60% erhöht und ist bei den anderen Versuchen kontrollgleich geblieben.

Während der 2. Untersuchungsperiode vollziehen sich offensichtlich Umbauvorgänge in der Leber, die eine ungleichmäßige Verteilung bzw. gezielte Lokalisation der einzelnen Zellgrößen zur Folge haben, so daß die Methode das wahre X in a^2 nicht mehr wiedergibt und die Vorgänge von der Zellzahl her nicht zu analysieren sind.

Das relative Lebergewicht bleibt trotz langer Versuchsdauer für Dimethylnitrosamin im Kontrollbereich, bei allen übrigen Fremdstoffeinwirkungen einschließlich der Kombinationen wird eine Lebervergrößerung hervorgerufen, über deren Ursache diskutiert wird.

4.) Im histologischen Bild der Leber fällt bei Halothan und seinen Kombinationen eine fein- bis grobtropfige, vorwiegend zentral und intermediär lokalisierte Verfettung auf. Der Glykogengehalt

vermindert sich mit zunehmender Versuchsdauer. Nach 1/2jähriger Fremdstoffeinwirkung treten zellmorphologische Veränderungen und Nekrosen auf. Milz und Niere bleiben unbeeinträchtigt.

T a b e l l e 1

Körper- gew.	1/4 Jahr					
	Abs. Leb.Gew.	Rel. Leb.Gew.	L	D	X	B
33,9	1695	50,0	132	23	110	108
35,0	1710	48,3	121	17	105	103
40,1	1740	43,4	129	15	114	102
34,9	1780	51,0	137	27	109	130
37,0	1820	49,7	162	53	108	113
40,0	1860	46,5	130	21	109	120
38,5	1870	47,2	123	14	109	99
40,5	1880	46,4	120	16	104	105
36,8	1890	51,3	138	29	109	101
39,0	1960	50,3	126	21	106	113
MW 37,6	1820	48,4	132	24	108	109
6m $\pm 2,5$	$\pm 86,9$	$\pm 1,9$			$\pm 0,9$	$\pm 2,9$
	1/2 Jahr					
39,0	1920	48,7	141	29	113	127
42,9	1940	45,2	129	25	104	123
42,1	2000	48,6	130	17	113	106
41,1	2060	50,0	121	18	103	100
41,2	2080	50,5	139	25	114	107
41,0	2090	50,9	142	27	115	109
43,2	2140	49,5	130	22	108	121
42,9	2180	50,8	119	15	104	95
43,5	2200	50,6	141	30	111	102
45,2	2200	48,7	138	30	108	110
MW 42,2	2081	49,3	133	24	109	110
6m $\pm 1,7$	$\pm 32,4$	$\pm 1,76$			$\pm 0,9$	$\pm 3,08$

T a b e l l e 2

Nr.	Körper- gew.	Abs. Leb.gew.	Rel. Leb.gew.	L	D	X	B
KK 1	24,2	1020	42,2	150	21	130	112
KK 2	24,0	1080	45,0	160	30	136	116
KK 3	23,5	1100	46,8	151	17	133	104
KK 4	27,0	1140	42,2	146	20	126	116
KK 5	24,1	1200	49,8	158	27	130	104
KK 6	26,1	1210	46,4	162	35	127	120
KK 7	24,8	1240	50,0	176	52	124	117
KK 8	25,9	1270	49,0	171	50	121	119
KK 9	27,2	1280	47,1	137	21	116	112
KK 10	28,5	1340	47,0	133	13	120	107
KK 11	34,0	1360	40,0	137	16	121	126
KK 12	34,0	1400	40,0	144	25	119	127
KK 13	26,8	1440	53,8	150	38	112	118
KK 14	29,5	1450	49,2	133	19	114	121
KK 15	29,0	1470	50,7	128	19	109	106
KK 16	33,8	1490	44,2	133	16	117	113
KK 17	31,8	1530	48,1	164	45	119	117
KK 18	29,5	1580	53,6	148	31	117	126
KK 19	34,8	1590	45,7	145	35	111	111
KK 20	32,5	1600	48,1	126	18	108	112
MW			46,9				115

Т а б е л л е 3

Nr.	Körper- Gew.	Leber- Gew.	Rel. Leb.gew.	L	D	x	B	Plasma Kern	Kern %	Plasma %	Kapillar-+Bindegewebs- +Extrazellularraum %
KK 1	24,2	1020	42,2	150	21	130	112	4,9	14,0	69,1	16,9
KK 5	23,5	1100	46,8	151	17	133	104	5,6	12,9	72,0	15,0
KK 4	24,1	1200	49,8	158	27	130	104	6,5	11,3	74,5	14,1
KK 5	26,1	1210	46,4	162	35	127	120	4,7	14,2	67,3	18,4
KK 8	27,2	1280	47,1	137	21	116	112	5,8	12,4	73,1	14,9
KK 10	28,5	1340	47,0	133	13	120	107	6,4	11,4	73,3	14,9
KK 11	24,0	1360	40,0	137	16	121	126	4,3	15,3	66,4	18,1
KK 12	29,6	1400	47,3	144	25	119	127	4,9	14,0	69,1	16,9
KK 14	29,5	1450	49,2	133	19	114	106	4,8	14,0	68,4	17,5
KK 15	29,0	1470	50,7	128	19	109	113	4,8	14,2	68,4	17,6
KK 16	33,8	1490	44,2	133	16	117	117	5,1	13,6	69,6	16,7
KK 17	31,8	1530	48,1	164	45	119	126	4,9	14,0	69,2	16,1
KK 19	34,8	1590	45,7	145	35	111	112	5,0	13,9	69,7	16,0
KK 20	32,5	1600	48,1	126	18	108	104	5,1	13,7	69,6	16,6

Т а б е л л е 3 (Fortsetzung)

Nr.	Körper- Gew.	Leber- Gew.	Rel. Leb.gew.	L	D	x	B	Plasma Kern	Kern %	Plasma %	Kapillar-+Bindegewebs- +Extrazellularraum %
						119	121	5,3	13,3	70,7	

Tabelle 4

Methylbenzoat

Chloroform

Abs. Lebergew.	X in a ²	Abs. Lebergew.	X in a ²
1020	130	1080	130
1210	120	1200	130
1400	119	1280	116
1450	114	1490	117
1470	109	1530	119
1580	117	1590	111
1640	114	1600	108
1695	110	1630	119
1700	115	1670	113
1730	104	1710	105
1770	110	1740	112
1780	109	1800	115
1537	114	1527	116

Tabelle 5

	I Körper- gewicht g	II Differenz z. Anfangs- kontroll- gewicht %	III Zuwachs- quoten %	IV Gesamt- zuwachs %	V Gesamt- zuwachs reduziert auf 20 g Anfangs- gewicht %	VI Diffe- renz z. Gesamt- zuwachs d. Kontrollen (V) %	VII Signi- fikanz
KK Anfang 4 Wochen 8 Wochen 1/4 Jahr 1/2 Jahr	20,0 30,0 34,6 38,0 40,3		50 15 10 6	90 101	3d = 7% 3d = 7%		
LL Anfang 4 Wochen 8 Wochen 1/4 Jahr 1/2 Jahr	18,0 31,0 35,0 36,0 40,2	-10	72 13 3 10	100 123	86 103	-4 -2	∅
HH Anfang 4 Wochen 8 Wochen 1/4 Jahr 1/2 Jahr	20,0 27,0 34,5 35,5 39,7	0	35 28 3 12	78 98,5	78 98,5	-12 -2,5	+ ∅
HL Anfang 4 Wochen 8 Wochen 1/4 Jahr 1/2 Jahr	20,3 26,7 33,1 35,0 38,0	+1,5	31 24 6 9	72 87	74,5 89,5	-15,5 -11,5	+
DD Anfang 4 Wochen 8 Wochen 1/4 Jahr 1/2 Jahr	19,0 32,0 36,0 36,6 39,9	-5	68 12 2 9	93 110	83 100	-7 -1	∅
LD Anfang 4 Wochen 8 Wochen 1/4 Jahr 1/2 Jahr	20,7 31,5 35,0 38,5 42,3	+3,5	52 11 10 10	86 104	91 111	+1 +10	∅ +
HD Anfang 4 Wochen 8 Wochen 1/4 Jahr 1/2 Jahr	19,0 28,6 32,0 35,0 37,2	-5	50 12 9 6	84 96	73 86	-17 -15	+

Körperwachstum
(prozentualer Vergleich)

T a b e l l e 6

	Leb. gew. mg	I %	Maximalwert mg	Minimalwert	Gm
KK 4 Wo.	1000				
KK 1/4 J.	1820	82	1960	1695	$\pm 86,9$
KK 1/2 J.	2081	108	2200	1920	$\pm 32,4$
LL 4 Wo.	1000				
LL 1/4 J.	1768	77	1600	1880	$\pm 40,5$
LL 1/2 J.	3217	222	3750	2840	$\pm 134,4$
HH 4 Wo.	1000				
HH 1/4 J.	2860	186	3230	2540	$\pm 97,8$
HH 1/2 J.	2928	193	3200	2730	$\pm 68,1$
HL 4 Wo.	1000				
HL 1/4 J.	2225	122	2670	1840	$\pm 184,0$
HL 1/2 J.	4305	330	4860	3780	$\pm 143,0$
DD 4 Wo.	1000				
DD 1/4 J.	1858	86	2150	1670	$\pm 74,5$
DD 1/2 J.	1845	84	2100	1610	$\pm 71,9$
LD 4 Wo.	1000				
LD 1/4 J.	1798	80	1950	1610	$\pm 50,1$
LD 1/2 J.	2648	165	2980	2200	$\pm 120,4$
HD 4 Wo.	1000				
HD 1/2 J.	2745	174	2960	2460	$\pm 72,4$

Verhalten des abs. Lebergewichts
nach 1/4- u. 1/2jähriger Behandlung

I = prozentualer Unterschied zum Ausgangswert von 1000mg

Tabelle 7

	Rel.Leb.Gew. mg	I %	Maximalwert mg	Minimalwert	Gm
KK 4 Wo.	50,0				
KK 1/4	48,4	-3	51,3	43,4	$\pm 1,9$
KK 1/2	49,3	-1	50,9	45,2	$\pm 1,76$
LL 4 Wo.	50,0				
LL 1/4	46,5	-7	49,0	41,5	$\pm 1,22$
LL 1/2	80,3	+61	89,7	74,3	$\pm 2,26$
HH 4 Wo.	50,0				
HH 1/4	78,9	+58	91,0	72,5	$\pm 2,68$
HH 1/2	74,5	+49	77,1	72,2	$\pm 0,74$
HL 4 Wo.	50,0				
HL 1/4	70,7	+41	76,7	62,9	$\pm 1,73$
HL 1/2	113,0	+126	125,0	102,0	$\pm 4,11$
DD 4 Wo.	50,0				
DD 1/4	47,1	-6	53,7	43,5	$\pm 1,65$
DD 1/2	48,1	-4	53,1	43,7	$\pm 1,48$
LD 4 Wo.	50,0				
LD 1/4	43,5	-19	47,6	38,7	$\pm 1,25$
LD 1/2	64,7	+29	72,2	60,9	$\pm 64,7$
HD 4 Wo.	50,0				
HD 1/2	76,0	+52	80,4	70,0	$\pm 2,10$

Verhalten des rel. Lebergewichts
nach 1/4- u. 1/2-jähriger Behandlungsdauer

I = prozentualer Unterschied
zum Ausgangswert von 50,0 mg

T a b e l l e 8

	Wachstumstrend Neigungswinkel	Hypertrophie
KK 1000 - 1600	- 20°	48%
KK 1600 - 2200	- 8°	20%
KK 1/4	- 18°	40%
KK 1/2	- 16°	36%
LL 1/4	- 32°	72%
LL 1/2	- 41°	89%
HH 1/4	- 21°	48%
HH 1/2	- 27°	60%
HL 1/4	- 38°	84%
HL 1/2	- 25°	56%
DD 1/4	- 28°	62%
DD 1/2	- 19°	43%
LD 1/4	- 34°	76%
LD 1/2	- 41°	89%
HD 1/2	- 27°	60%

Abhängigkeit der Hypertrophie
vom Neigungswinkel des Wachstumstrends

T a b e l l e 9

Nr.	Körper- gew.	Leber- gew.	Rel. Leb.gew.	L	D	x	B	Plasma Kern	Kern %	Plasma %	Kapillar-+Bindegewebs- +Extrazellularraum %
IL 1	36,8	1790	48,6	95	12	82	84	6,4	11,4	72,4	16,2
IL 2	38,0	1800	47,4	122	17	105	75	6,3	11,5	71,9	16,4
IL 3	38,5	1600	41,5	120	21	99	76	7,1	10,4	74,1	15,5
IL 4	37,1	1820	49,0	105	13	93	94	6,5	11,3	73,3	15,4
IL 5	39,0	1880	48,2	111	16	96	88	6,4	11,5	73,9	14,5
IL 6	39,0	1720	44,1	124	29	82	98	6,2	11,8	73,5	14,7
Mittelw.	38,1	1768	46,5	113	18	93	86	6,5	11,3	73,2	15,5
δm	$\pm 0,39$	$\pm 40,5$	$\pm 1,22$	$\pm 1,46$	$\pm 2,56$	$\pm 3,79$	$\pm 3,82$	$\pm 0,13$	$\pm 0,20$	$\pm 0,35$	$\pm 0,31$
p <	0, 2	$\emptyset$	$\emptyset$			0,01	0,001	0,001	0,01	0,01	0,01
IL 7	37,2	2860	76,8	71	15	56	45	8,2	8,6	70,3	21,1
IL 8	44,0	3400	77,3	64	9	54	77	7,9	8,9	71,1	21,2
IL 9	41,8	3750	89,7	59	8	52	56	8,0	8,8	70,5	20,9
IL 10	40,1	3330	83,0	65	10	55	53	8,3	8,6	71,2	20,2
IL 11	42,0	3120	74,3	49	7	42	53	8,1	8,7	70,5	20,9
IL 12	35,2	2840	80,7	49	8	42	41	8,0	8,8	70,8	20,5
Mittelw.	40,0	3217	80,3	59	9	50	54	8,1	8,7	70,7	20,8
δm	$\pm 1,34$	$\pm 134,4$	$\pm 2,26$	$\pm 1,16$	$\pm 1,20$	$\pm 2,64$	$\pm 5,11$	$\pm 0,06$	$\pm 0,07$	$\pm 0,15$	$\pm 0,15$
p <	$\emptyset$	0,001	0,001			0,001	0,001	0,001	0,001	$\emptyset$	0,001

Tabelle 10

Nr.	Körper- gew.	Leber- gew.	Rel. Leb.gew.	L	D	x	B	Plasma Kern	Kern %	Plasma %	Kapillar-+Bindegewebs- +Extrazellulärraum
L 1	32,0	1920	60,0	81	8	73	63	6,1	12,8	78,7	8,5
L 2	31,8	2100	66,0	112	15	97	93	5,4	13,6	73,2	13,2
L 3	31,9	1980	62,1	93	10	86	86	5,6	13,5	76,8	9,4
L 4	31,3	1680	53,7	143	22	121	89	4,9	15,2	75,3	9,4
L 5	33,3	1980	59,5	143	19	107	127	5,1	14,7	75,5	9,7
L 6	32,2	1760	54,7	129	17	113	104	5,2	14,1	73,7	12,0
Mittelw.	32,1	1903	59,3	117	15	99	94	5,4	14,0	75,5	10,4
♂ m	+0,28	+63,5	+1,88	+10,6	+2,18	+7,14	+8,64	+0,17	+0,35	+0,83	+0,74
p <		0,001	0,001					ø	ø	0,001	0,001
L I	32,2	3880	120	73	7	66	86	9,5	8,6	81,9	9,5
L II	31,2	3180	102	125	17	109	77	6,2	12,6	78,3	9,1
L III	31,9	2980	93	83	13	71	91	8,3	9,8	80,5	9,7
L IV	31,8	2400	75	80	12	68	65	8,4	9,4	79,0	11,4
L V	32,1	3220	103	108	13	95	84	6,4	11,8	76,4	12,0
L VI	33,8	3100	82	71	8	65	92	6,5	11,7	76,1	12,1
Mittelw.	32,3	3127	96,0	90	12	79	82	7,5	10,6	78,7	10,6
♂ m	+0,36	+194,1	+6,61	+8,85	+1,50	+7,54	+4,14	+0,56	+0,65	+0,92	+0,55
p <	ø	0,001	0,001					0,001	0,01	0,001	0,001

Tabelle 11

Nr.	Körper- gew.	Leber- gew.	Rel. Leb.gew.	L	D	x	B	Plasma Kern	Kern %	Plasma %	Kapillar-+Bindegewebs- +Extrazellularraum %
HH 1	37,9	3010	79,4	107	12	95	91	6,8	10,7	72,9	16,3
HH 2	35,5	3230	91,0	117	17	100	87	6,3	11,7	73,5	14,9
HH 3	37,0	2860	77,3	113	15	98	67	6,9	10,6	74,1	15,2
HH 4	36,2	2710	77,6	95	11	84	75	7,0	10,3	72,2	17,4
HH 5	35,1	2540	72,5	85	12	74	83	7,1	10,2	72,5	17,4
HH 6	37,1	2810	75,8	97	13	83	73	6,9	10,5	72,3	17,2
Mittelw.	36,5	2860	78,9	102	13	89	79	6,8	10,7	72,9	16,4
6 m	$\pm 0,43$	$\pm 97,8$	$\pm 2,68$	$\pm 4,94$	$\pm 0,93$	$\pm 4,18$	$\pm 3,38$	$\pm 0,12$	$\pm 0,22$	$\pm 0,31$	$\pm 0,46$
p <	0,001	0,001	0,001			0,001	0,001	0,001	0,001	0,01	$\emptyset$
HH 7	41,5	3200	77,1	90	14	76	81	6,2	10,9	67,3	21,7
HH 8	37,4	2830	75,7	56	7	49	92	6,0	11,4	69,1	19,4
HH 9	39,9	2880	72,2	88	12	76	93	5,4	12,6	67,9	19,5
HH 10	37,5	2730	72,8	99	15	83	79	5,5	12,2	67,6	10,0
HH 11	40,8	3040	74,5	125	18	108	119	5,7	13,2	66,3	20,4
HH 12	38,5	2890	75,1	75	9	66	94	5,2	13,0	67,5	19,6
Mittelw.	39,2	2928	74,5	89	14	76	93	5,7	12,2	67,6	20,1
6 m	$\pm 0,81$	$\pm 68,1$	$\pm 0,74$	$\pm 9,46$	$\pm 1,35$	$\pm 7,96$	$\pm 5,82$	$\pm 0,15$	$\pm 0,37$	$\pm 0,37$	$\pm 0,35$
p <	$\emptyset$	0,001	0,001			0,01	$\emptyset$	0,01	$\emptyset$	$\emptyset$	0,001

T a b e l l e 12

Nr.	Körper- gew.	Leber- gew.	Rel. Leb.-Gew.	L	D	x	B	Plasma Kern	Kern %	Plasma %	Kapillar-+Bindegewebs +Extrazellulärraum %
HL I	35,1	2670	76,7	91	13	78	78	7,7	9,6	74,3	16,5
HL II	27,0	1840	68,1	65	6	60	38	5,9	12,1	72,0	15,8
HL III	31,5	2370	75,2	82	11	71	94	6,1	11,8	72,1	16,1
HL IV	32,1	2020	62,9	88	13	75	50	7,9	10,0	78,8	14,2
Mittelw.	31,4	2225	70,7	81	11	71	65	6,9	10,9	74,3	15,7
6m	+1,67	+184	+1,73	+5,82	+1,66	+3,94	+8,09	+0,52	+0,63	+0,52	+0,50
p <	0,01	ø	0,001			0,001	0,001	0,01	0,02	0,001	ø
HL 1	37,0	3780	102	93	15	78	92	6,8	10,7	72,3	17,0
HL 2	40,0	4430	110	59	6	53	74	8,2	9,1	74,4	16,5
HL 3	35,0	4260	121	65	10	54	64	8,0	9,3	74,3	16,3
HL 4	38,8	4860	125	93	12	81	102	7,6	9,6	73,1	16,9
HL 5	35,8	4320	120	83	10	73	106	7,7	9,5	73,4	17,1
HL 6	40,6	4180	102	72	9	64	95	7,8	9,4	73,3	17,3
Mittelw.	37,8	4305	113	77	10	67	88	7,7	9,6	73,5	16,9
6m	+0,98	+143	+4,11	+5,89	+1,24	+4,92	+6,73	+0,20	+0,23	+0,32	+0,16
p <	0,02	0,001	0,001			0,001	0,02	0,001	0,001	0,001	ø

Tabelle 13

Nr.	Körper- gew.	Lieber- gew.	Rel. Leb.gew.	L	D	x	B	Plasma- Kern	Kern %	Plasma %	Kapillar-+Bindegewebs- Extrazellulärraum %
DD 1	40,0	2150	53,7	87	14	73	86	5,5	11,8	65,6	22,5
DD 2	41,6	1830	44,0	98	22	77	71	6,2	11,2	69,3	19,2
DD 3	37,0	1780	48,1	121	21	100	94	6,0	11,3	68,4	20,3
DD 4	38,0	1670	44,0	132	27	105	79	6,3	10,6	67,5	21,9
DD 5	39,5	1720	43,5	135	19	115	99	6,2	10,8	67,1	22,0
DD 6	40,5	2000	49,5	123	23	101	118	6,1	10,8	66,4	21,7
Mittelw.	39,4	1858	47,1	116	21	95	91	6,1	11,1	67,4	21,3
6m	±0,69	±74,5	±1,65	±7,86	±1,77	±6,76	±6,70	±0,12	±0,57	±0,55	±0,51
p <	ø	ø	ø			ø	ø	0,001	0,02	ø	0,001
DD 7	36,8	1610	43,7	104	14	90	118	5,8	11,3	66,1	22,6
DD 8	32,2	1710	53,1	114	17	98	129	5,9	11,6	68,8	19,5
DD 9	41,0	1820	44,4	139	24	114	137	5,3	12,8	67,3	19,6
DD 10	36,5	1860	50,9	148	29	118	131	4,8	13,6	66,4	20,0
DD 11	40,8	1970	48,2	135	29	106	100	5,4	12,5	67,6	19,8
DD 12	43,4	2100	48,4	127	19	107	119	5,6	12,2	67,9	19,8
Mittelw.	38,4	1845	48,1	128	22	105	122	5,5	12,3	67,3	20,2
6m	±1,68	±71,9	±1,48	±6,69	±2,58	±1,35	±5,37	±0,16	±0,34	±0,41	±0,48
p <	ø	0,01	ø			ø	ø	ø	ø	ø	0,001

Nr.	Körper- gew.	Leber- gew.	Rel. Leb. Gew.	L	D	X	B	Plasma Kern	Kern %	Plasma %	Kapillar-+Bindegewebs- +Extrazellulärraum %
LD 1	41,5	1830	44,1	120	23	98	107	5,4	14,5	77,8	7,6
LD 2	42,0	1730	41,2	105	24	98	85	6,2	12,7	78,4	8,9
LD 3	41,6	1610	38,7	109	16	93	75	6,0	12,8	77,2	8,9
LD 4	41,0	1900	44,4	89	13	76	97	5,6	13,8	77,3	9,1
LD 5	40,1	1770	44,1	117	18	99	72	5,1	15,1	75,3	9,3
LD 6	41,0	1950	47,6	76	13	64	65	6,1	12,7	77,8	9,4
Mittelwert	41,2	1798	43,5	103	18	88	83	5,9	13,6	77,3	8,9
$\bar{\sigma}_m$	$\pm 0,27$	$\pm 50,1$	$\pm 1,25$	$\pm 6,95$	$\pm 1,96$	$\pm 5,96$	$\pm 6,51$	$\pm 0,06$	$\pm 0,42$	$\pm 0,44$	$\pm 0,24$
$p <$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$			0,01	0,001	0,01	$\emptyset$	0,001	0,001
LD 7	41,1	2600	63,2	68	12	59	85	4,9	14,1	70,1	15,8
LD 8	39,9	2430	60,9	77	10	67	57	5,1	13,9	71,2	14,8
LD 9	47,2	2980	63,1	59	5	55	74	6,4	11,1	71,4	17,3
LD 10	43,1	2820	65,4	55	4	51	37	5,3	13,3	70,7	16,1
LD 11	39,6	2860	72,2	72	12	60	78	4,9	14,0	69,2	16,7
LD 12	34,8	2200	63,2	59	8	53	62	4,6	14,0	68,8	17,1
Mittelwert	40,9	2648	64,7	65	8	57	66	5,2	13,4	70,2	16,3
$\bar{\sigma}_m$	$\pm 1,68$	$\pm 120,4$	$\pm 1,66$	$\pm 3,53$	$\pm 1,43$	$\pm 2,37$	$\pm 7,08$	$\pm 0,26$	$\pm 0,47$	$\pm 0,43$	$\pm 0,38$
$p <$	0,01	0,001	0,001			0,001	0,001	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$

T a b e l l e 15

Nr.	Körper- gew.	abs. Leb.gew.	Rel. Leb.gew.	L	D	x	B	Plasma- Kern	Kern %	Plasma %	Kapillar-+Bindegewebs- +Extrazellularraum %
HD 1	34,1	2740	80,4	82	11	71	72	6,1	11,9	73,2	14,8
HD 2	35,3	2960	83,8	70	7	63	51	6,3	11,9	75,2	15,9
HD 3	33,1	2460	74,3	114	16	96	111	5,6	12,6	70,4	16,9
HD 4	40,0	2800	70,0	90	11	77	83	5,8	12,1	71,1	16,7
HD 5	36,5	2640	72,3	95	12	83	73	5,7	12,3	71,2	16,5
HD 6	38,1	2870	75,3	96	15	82	69	5,5	12,6	70,4	16,9
Mittelw.	36,2	2745	76,0	91	12	79	76	5,8	12,2	71,9	16,3
6m	+1,38	+72,4	+2,10	+6,04	+1,32	+4,49	+8,11	+0,13	+0,4	+2,4	+0,33
p <	0,001	0,001	0,001			0,001	0,01	0,01	0,01	0	0

Literatur

- 1.) Conney, A.H., Gilette, J.R., Inskoe, J.K., Trams, E.R., Posner, H.S.: Science 130 S.1478 (1958)
- 2.) Gössner, W., Schneider, G., Siess, M., Stegmann, H.: Nr. 6 Virchows Archiv Bd. 320 S. 326-373
- 3.) Hoops, A.: „Zur Frage der Leberbelastung durch Pharmaka". Med. Inaugural-Dissertation, Marburg 1963
- 4.) Haakh, U., Bundesforschungsanstalt Tübingen; persönliche Mitteilungen
- 5.) Kraft, E. und Stichel, H.: Virchows Archiv, Bd. 324, S. 650-661 (1954)
- 6.) Kunz, H.W.: „Die Beeinflussung von Gehalt und Redoxlage der Pyridinnucleotidsysteme der Leber durch die Metabolisierung von Fremdstoffen und ihre zellphysiologische Bedeutung". Habilitationsschrift, Med. Fakultät Marburg 1963
- 7.) Manus Mc., J.F.A.: Nature (London) 158, 202 (1946)
- 8.) Preis, C.: „Histometrische Untersuchungen über die pharmakologisch induzierte Lebervergrößerung der weißen Maus". Med. Inaugural-Dissertation, Marburg 1964
- 9.) Recker, K.: Frankfurter Zeitschrift für Pathologie, 1949, Vol. 61, pp 137-148
- 10.) Remmer, H., Merker, H.J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 245 S.76 (1963)
- 11.) Romeis, B.: Mikroskopische Technik: Fettfärbung, Scharlachrot § 1046 u. ff.
- 12.) Schuchard, E.: Handbuch der Mikroskopie in der Technik (Hugo Freund), Bd. I, Teil 1, S. 565-588, Umschauverlag 1957
- 13.) Schmidt, B.: „Vergleichende Untersuchungen über narkotische Wirkung und Toxizität einiger Inhalations-Narkotika an der Maus". Med. Inaugural-Dissertation, Marburg 1963
- 14.) Siess, M. und Stegmann, H.: Nr.4 Virchows Archiv, Bd. 318, S. 534-574 (1950)
- 15.) Siess, M., Schmidt, B., Oehmig, H. und Kirchner, E.: Bruns' Beiträge zur klinischen Chirurgie, Bd. 206, H.4 (1963), Verlag Urban und Schwarzenberg
- 16.) Ther, L.: Grundlagen der experimentellen Arzneimittelforschung. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH., Stuttgart 1965

Mein Dank gilt
Herrn Professor Dr. W. Schmid
Herrn Professor Dr. M. Siess
und
Fräulein Dr. G. Schaude

L e b e n s l a u f

Am 24. November 1936 wurde ich als Tochter des im Kriege gefallenen Kaufmanns Walter Thal und dessen Ehefrau Susanna Thal geb. Hübner in Göttingen geboren.

Ich besuchte die Grundschule in Bad Sooden - Alledorf von 1944-1949, von 1949-1958 das Real-Gymnasium daselbst. Nach dem Abitur begann ich im Sommersemester 1958 das Studium der Zahnheilkunde an der Universität Göttingen. Im Oktober 1960 bestand ich in Marburg die Zahnärztliche Vorprüfung. Im 7. und 8. Semester studierte ich an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg. Das Staatsexamen legte ich im Winter 1964 in Marburg ab und begann im März 1964 mit meiner Doktorarbeit am Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Ich beabsichtige, mich nach Abschluß der Arbeit als Fachärztin für Kieferorthopädie auszubilden.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

in Göttingen

Blechschmidt, Hilsch, Buckel,
Glemser, Bachmann, Bolle,
Brockmann, Vogel;

in Marburg

Niessing, Petry, Hensel, Bücher,
Janke, Vogt, Rosemann, Oksche,
Seidel, Heuser, Dimroth, Mahr,
Pantke, Hamm, Hennis, Maurath,
Hering, Prinz, Schmid, Siegert,
Marx, Löhr, Meyer, Siess, Hornung,
Braun-Falco;

in Freiburg

Büchner, Noetzel, Schreiber, Rehm,
Schumacher, Eschler, Kümmerle,
Hoffmann, Giertz, Beck, Hummel,
Pfister.

